Beiträge zum forensischen Nachweis der Alkaloide

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen
Philosophischen Fakultät der Universität Marburg

vorgelegt von

Hugo Banniza
Apotheker aus Hemer

MARBURG
Buchdruckerei von Joh. Hamel
1926

Angenommen von der philosophischen Fakultät Marburg
am 6. Juli 1926.

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.

Referent: Herr Geh. Rat Professor Dr. Gadamer.

Der Nachweis der Alkaloide spielt eine wichtige Rolle in der toxikologischen Chemie. Einmal sind die Alkaloide ihrer physiologischen Wirkung wegen meist viel gebrauchte Arzneimittel; dabei ist häufig die tödliche Dosis gegenüber den stärksten anorganischen Giften sehr klein, die Möglichkeit fahrlässiger oder absichtlicher Vergiftungen infolgedessen eine große. Anderseits gehört der Nachweis der Alkaloide mit zu den schwierigsten Gebieten der forensischen Chemie, und in manchen Punkten bedarf die Kenntnis über ihr Verhalten und ihren Nachweis noch weiterer Klärung. Zweck dieser Arbeit war, einige derartiger noch nicht befriedigend gelöster Fragen erneut aufzuwerfen und zu beleuchten, um sie einer endgültigen Klarstellung zum mindesten näher zu bringen.

Der erste Teil der Arbeit befaßt sich mit dem Verhalten der Alkaloide im Erdboden, der zweite bringt neue Beiträge zum Nachweis des Morphins.

I.

Für den gerichtlichen Experten ergibt sich des öfteren, speziell bei Exhumierung von Leichen, die bereits einige Zeit im Erdboden gelegen haben, die Notwendigkeit, auch die Bodenerde auf eventuelle Anwesenheit von Giftstoffen zu untersuchen. Denn man muß, vor allem wenn es sich um den Nachweis von Substanzen handelt, die gegen Zersetzung durch Fäulnis oder andere Zersetzungsmöglichkeiten relativ widerstandsfähig sind, unbedingt damit rechnen, daß durch einsickerndes Regenwasser, Steigen und Fallen des Grundwassers oder auch durch die im Laufe der Verwesung frei werdenden Körperflüssigkeiten die Giftstoffe mehr oder

weniger in die benachbarten Teile des Bodens übergehen können. Deshalb wies schon G. Dragendorf in seiner „Gerichtlich-chemischen Ermittelung von Giften“ nachdrücklichst darauf hin, daß in solchen Fällen stets die unter und über der Leiche befindliche Erde in gesonderten Proben mit der Untersuchung unterworfen werden müsse. Als Objekte derartiger Untersuchungen können nun auch Alkaloide in Frage kommen und deshalb ist ihr Verhalten im Erdboden unter Umständen für den forensischen Chemiker von größtem Interesse.

Eine Arbeit von P. Lavialle-Straßburg[1]) über „Die Zerstörung der Alkaloide im Erdboden“ bot den Anlaß, das Verhalten von Alkaloidsalzlösungen im Erdboden zum Gegenstand einer eingehenden Untersuchung zu machen. Lavialle machte gelegentlich von Untersuchungen, die das Studium des Einflusses von Giften auf das Keimen von Samen zum Zweck hatten, die Beobachtung, daß sich Alkaloide, die er, als Salze in destilliertem Wasser gelöst, zu Töpfen mit Gartenerde zugesetzt hatte, nach vier Monaten nicht mehr nachweisen ließen. Er setzte jeweils zu ca. 1kg Erde Mengen von 0,2—0,5 g Alkaloidsalz (Kokainhydrochlorid, Strychninnitrat und Morphinhydrochlorid). In sämtliche Töpfe säte er Samen ein, ließ diese keimen, entfernte die jungen Pflanzen, die meist ein recht kümmerliches Wachstum zeigten, bis auf eine, die nach vier Monaten zur Blüte kam. Bei sämtlichen Versuchen — bei allen drei oben erwähnten Alkaloiden und beim Besäen sowohl mit Tabaksamen als auch Besenginster oder Mohnsamen — war weder im Boden, noch im Topf selbst, noch in den gewachsenen Pflanzen auch nur eine Spur Alkaloid nachweisbar. Das gleiche Ergebnis zeitigten Versuche, bei denen von einer Bepflanzung abgesehen wurde. Als Untersuchungsgang benutzte Lavialle den bekannten Gang nach Stas-Otto. Lav. glaubt, daß die Alkaloide durch Mikroorganismen (Erdbakterien) zerstört worden seien. Bei Ver-

[1]) Bulletin des sciences pharmakol. 30. 321—25 Straßburg.

suchen, die er unter sonst gleichen Bedingungen mit sterilisierter Erde anstellte, will er die Alkaloide deutlich wiedergefunden haben.

Dieser von Lavialle gegebenen Erklärung für das scheinbare oder tatsächliche Verschwinden der Alkaloide stehen aber doch mancherlei Bedenken gegenüber, die sie, zum mindesten als alleinige Ursache, sehr zweifelhaft erscheinen lassen. Einmal ist von vornherein nicht ohne weiteres eine schädigende Wirkung der Bakterien auf die Alkaloide zu erwarten, es wäre ebenso gut möglich, daß die Erdbakterien in ihrem Wachstum durch die Alkaloide in ähnlicher Weise beeinträchtigt werden, wie das für die höher entwickelten Pflanzen bereits öfter festgestellt wurde, so z. B. von Th. Sabalitschka, der eine starke Hemmung des Wachstums von Pflanzenkeimlingen nicht nur durch fremde, sondern sogar durch arteigne Alkaloide beobachtete, z. B. Strychnos-Keimlinge durch Strychnin;[1]) oder von G. Ciamician und C. Ravenna[2]), ferner von W. Siegmund[3]), die ebenfalls eine starke Giftwirkung der Alkaloide auf Keimung und Wachstum von Pflanzen feststellten. Die von Lavialle selbst bei seinen Versuchen beobachtete kümmerliche Entwicklung der eingesäten Samen resp. Pflanzen ist vielleicht auch auf diese Weise zu erklären. Eine deutliche Giftwirkung der Alkaloide auf Bakterien beobachtete auch R. Labes[4]). Interessant an seinen Versuchsergebnissen ist vor allem die Tatsache, daß die Alkaloide umso stärker wachstumshemmend auf die Bakterien einwirkten, je mehr der PH der betreffenden Lösung zum alkalischen Gebiet neigte, d. h., ein je höherer Bruchteil lipoidlöslicher und oberflächenaktiver Alkaloidbase in der betreffenden Lösung vorhanden war. Mit letzterer Erklärung schließt sich Labes

---

[1]) Pharm. Ztg. 69, S. 1019. (1924).
[2]) Atti R. Acad. dei Lincei, 26 I 3—7.
[3]) Biochem. Ztschr. 62, 1914, 299 u. 339.
[4]) „ „ 130, 14—24, 20/6.

an die shon 1912 von Traube [1]) gemachte Feststellung an, daß ein geringer Zusatz von alkalischen Salzen oder Alkalien zu Alkaloidsalzlösungen für zahlreiche Alkaloide eine wesentliche Verstärkung ihrer pharmakologischen und toxischen Wirkung bedinge, die durch das Zustandekommen von übersättigten Lösungen des betreffenden Alkaloides in basischer und deshalb lipoidlöslicher und besonders oberflächenaktiver Form zu erklären ist. Mit dieser Auffassung steht die von Lavialle ausgesprochene Vermutung, daß die in seinen Versuchen zugesetzten Alkaloide durch das Calcium-Carbonat des Bodens teilweise unlöslich und damit ungiftig geworden seien, im Gegensatz.

Sodann läßt Lavialle einen Faktor ganz außeracht, der für die Bakterienflora im Boden von entscheidender Bedeutung ist: den PH des betreffenden Bodens. Zahlreiche neuere Arbeiten auf dem Gebiete der Agrikulturchemie haben erwiesen, daß eine weitgehende Uebereinstimmung besteht zwischen der Reaktion eines Bodens einerseits und dem Vorkommen und der Tätigkeit der Mikroorganismen im Boden andrerseits. Sowohl die qualitative wie die quantitative Zusammensetzung der Bakterienflora ist in sehr hohem Maße abhängig von der Reaktion des betreffenden Bodens. Und zwar hat sich gezeigt, daß für die Bakterien durchweg das Wachstums-Optimum im alkalischen Gebiet liegt, höchstens in der Nähe des Neutralpunktes, während im sauren Gebiet ein rascher Abfall des Bakterienvorkommens bis zum völligen Verschwinden festgestellt wurde. Dies gilt sogar, was zunächst widersinnig scheinen möchte, für diejenigen Bakterienarten des Bodens, die selber Produzenten starker anorganischer Säuren (HNO_3, H_2SO_4) sind. Auch für diese ist eine größere Wasserstoffionenkonzentration schädlich. Daß die säurebildenden Bakterien des Bodens keinen stärkeren Einfluß auf die Reaktion eines Bodens haben — an sich sollte man eine deutliche Zunahme der $H^{\cdot}$-Konzentration durch ihre Tätigkeit erwarten —,

[1]) Biochem. Ztschr. 42, 1912, 470.

ist darauf zurückzuführen, daß die Wirkung der gebildeten Säure durch Pufferwirkung des Bodens paralysiert wird. Jeder normale Boden, alkalischer wie saurer oder neutraler, besitzt solche Pufferwirkung. Diese Pufferwirkung besteht darin, daß der Boden Stoffe enthält, die einer Veränderung der aktuellen Wasserstoffionenkonzentration entgegen wirken. Je mehr als Puffer wirkende Bestandteile der Boden enthält, umso länger vermag er Aenderungen der Wasserstoffionenkonzentration zu widerstehen. Die „Nachgiebigkeit" bezw. „Pufferung" eines Bodens spielt deshalb eine wichtige Rolle für die Bewertung eines Bodens hinsichtlich seiner Eignung für die Bewirtschaftung. Denn es leuchtet ein, daß diese Eigenschaft meist mehr bedeutet als der aktuelle P_H, weil sie sozusagen die Gewähr bietet für die Erhaltung eines stationären mikrobiologischen Zustandes gemäß dem oben Ausgeführten. In den für die Bewirtschaftung hauptsächlich in Frage kommenden neutralen bezw. alkalischen Böden ist es hauptsächlich Calciumcarbonat, das die „Pufferung" gewährleistet. Sinkt der Kalkgehalt durch längere Ausnutzung, so tritt Sauerwerden des Bodens ein, und die Bakterientätigkeit geht zurück; durch Kalkzusatz zum Boden läßt sich dann die ursprüngliche Reaktion des Bodens wiederherstellen und damit die Bakterienflora regenerieren. Auf diesem Zusammenhang zwischen Bakterienvorkommen und -tätigkeit und Bodenreaktion fußt sogar eine recht zuverlässige Methode zur Bestimmung der Azidität eines Bodens, die von der Moor-Versuchsstation Bremen[1]) ausgearbeitet und mit gutem Erfolg angewandt wurde. Das Verfahren basiert auf den Ergebnissen mehrerer wichtiger Arbeiten auf diesem Gebiete, vor allem denen von H. Christensen[2]) und P. L. Gainey[3]), die zeigten, daß bei P_H 6,5—6,0 die Grenze für ein nennenswertes Vorkommen von Bakterien, speziell

[1]) vgl. Th. Arndt, Ztschr. f. Pflanzenernährung u. Düngung. 1924.
[2]) Tidsskr. f. planteaol. Bd. 21, 1914, S. 321. A. S. 227. Bd. 28, 1923, S. 733.
[3]) Journal of agricult. research. 24, S. 907, 1823.

von Azotobakter, liegt. Die Bakterien eignen sich deshalb besonders gut zum Studium der Einwirkung der Bodenreaktion auf ihr Wachstum, weil sie in dem betreffenden Medium ganz eingebettet sind, also, im Gegensatz zu den höheren Pflanzen, mit ihrem ganzen Organismus der Einwirkung des umgebenden Mediums ausgesetzt sind. Als Vergleichsmaßstab für Zahl und Wirksamkeit der Bakterien benutzt man bei derartigen Versuchen ihre chemischen Wirkungen und zwar werden, da die am leichtesten und schärfsten zu erfassenden derartigen Leistungen auf dem Gebiete der Stickstoff-Umsetzung liegen, die Vorgänge der Ammonisation und Nitrifikation bezw. Denitrifikation als Vergleichsmaßstab benutzt.

Auf Grund dieser Tatsachen wurden nun Versuche sowohl mit alkalischen wie sauren Böden, ähnlich den von Lavialle angestellten, vorgenommen, die in näheren Einzelheiten weiter unten besprochen werden. Sie zeigten, daß das von Lavialle beobachtete Verschwinden der Alkaloide auch bei Versuchen mit Erdboden von P_H: 4,5 auftrat, also bei einer Azidität des Bodens, die ein Bakterienwachstum nach dem oben Dargelegten ausschloß!

Einer Einwirkung der Bodenbakterien zur Erklärung des Verschwindens der Alkaloide wäre also nach dem oben Ausgeführten keine nennenswerte Bedeutung beizumessen. Vielmehr ist mit Sicherheit anzunehmen, daß es ganz verwickelte Adsorptionsvorgänge sind, die Alkaloide unter derartigen Bedingungen entweder gar nicht oder nur unter den größten Schwierigkeiten wiederfinden lassen. Die Möglichkeit von Adsorptionsvorgängen erwähnt Lavialle sonderbarer Weise gar nicht, obwohl eine derartige Erklärung hier, wo es sich einerseits um Alkaloide, also Stoffe handelt, deren Adsorbierbarkeit schon Gegenstand so zahlreicher Untersuchungen war, und andrerseits um Bodenerde, in der doch Adsorptionserscheinungen eine so große Rolle spielen, so naheliegt.

Ueber das Wesen einer Adsorption werden zur Zeit

noch zwei verschiedene Theorien verfochten, die sich aber durchaus nicht diametral gegenüberstehen, sondern sich nur dadurch von einander unterscheiden, daß die eine in den Adsorptionserscheinungen mehr eine Betätigung der Grenzflächenspannung der beiden verschiedenen mitwirkenden Phasen sieht, die andere die Adsorptionserscheinungen mehr vom valenztheoretischen Standpunkte aus, also mehr als eine Betätigung der Kräfte zwischen den dabei beteiligten Molekeln des Adsorbens einerseits, und des Adsorbendums und des Lösungsmittels anderseits ansieht. Traube sieht in den Adsorptionserscheinungen Betätigungen des „Haftdrucks“ und definiert, daß Adsorption dann eintritt, wenn der Haftdruck eines Adsorbendums am Adsorbens groß, am Lösungsmittel, in den meisten Fällen also am Wasser, aber sehr klein ist.[1]) Jedenfalls handelt es sich bei den Adsorptionserscheinungen um eine typische Verdichtung an der Grenzfläche. Am deutlichsten zeigt sich der Charakter der Adsorption als Grenzflächenbetätigung durch den auffallenden Parallelismus mit den Erscheinungen der Kapillaraktivität. Zum Beispiel zeigen die Salze durchweg wenig Kapillaraktivität, die betreffenden Säuren und Basen dagegen sind bedeutend kapillaraktiver; dementsprechend findet man auch eine bedeutend stärkere Adsorbierbarkeit bei den Säuren und Basen als bei den Salzen. Die Ergebnisse der neueren Arbeiten auf dem Gebiete der Adsorptionserscheinungen, wie sie vor allem von Freundlich, Michaelis, Rona und anderen vorliegen, lassen mehr und mehr erkennen, daß es sich bei dei Adsorptionsvorgängen neben den Erscheinungen der Oberflächenverdichtung eigentlich nur um eine Betätigung der altbekannten Valenzkräfte, um eine gegenseitige Beeinflussung der beteiligten Ionen handelt, in ganz analoger Weise, wie sie sich bei chemischen Reaktionen abspielt. In vielen Fällen ist man direkt geneigt, Adsorptionsvorgänge und die daraus resultierenden „Adsorp-

[1]) Kolloidztschr. 32. 383.

tionsverbindungen" als Vorstufe chemischer Reaktionen zu bezeichnen.

Zweierlei Arten von Adsorption sind nach den Ergebnissen von Michaelis und Rona[1]) von einander zu unterscheiden: die apolare und die polare Adsorption. Von apolarer Adsorption spricht man bei der Adsorption von Nichtelektrolyten oder schwachen Elektrolyten, überhaupt bei solchen Adsorptionsvorgängen, bei denen kein Unterschied in der Adsorbierbarkeit der beiden Ionen eines Adsorbendums in Erscheinung tritt, also z. B. auch bei Adsorption von starken Elektrolyten durch Kohle, sofern beide Ionen in äquivalenter Menge aufgenommen werden. Im Gegensatz zu dieser apolaren Adsorption bezeichnet man als polare Adsorption alle Adsorptionsvorgänge, bei denen die Ionen nicht in äquivalenter Menge aufgenommen werden, d. h. entweder das Anion oder das Kation bevorzugt adsorbiert wird. Die Adsorption kann ausschließlich polar sein, wie z. B. beim Kaolin und anderen Stoffen, wenn nur die eine Ionenart adsorbiert wird, sie kann aber auch teils polar, teils apolar sein, wenn, wie z. B. bei der Adsorption an Kohle, zwar sowohl Anion wie Kation adsorbiert werden, das eine aber im Ueberschuß, indem es, wie unten noch näher ausgeführt wird, austauschend ein Ion der an der Kohle befindlichen Verunreinigung verdrängt. Bei einer solchen gemischten Adsorption an der Kohle nimmt man heute an, daß die apolare Adsorption der Kohle selbst eigentümlich ist, während die daneben auftretende polare Adsorption den bei der Kohle immer vorhandenen Verunreinigungen zuzuschreiben ist. Bei der Erklärung der für den Kohlenstoff spezifischen apolaren Adsorption braucht man übrigens durchaus nicht irgend eine nichtchemische Kraft, die ihren Sitz vielleicht in der Oberfläche haben könnte, als Ursache des so außerordentlich hohen Adsorptionsvermögens der Kohle anzunehmen; vielmehr erscheint es nach den Ergebnissen der Untersuchungen speziell von

[1]) Biochem. Ztschr. 97, 1919, S. 57; 102, 1920, S. 268.

Michaelis und Rona[1]) vorteilhafter, das Adsorptionsvermögen des Kohlenstoffs ebenfalls auf chemische Affinitäten desselben zurückzuführen, die sich, bei der eigenartigen Stellung des Kohlenstoffs im periodischen System in gleicher Weise auf Anionen wie Kationen, aber auch auf elektroindifferente, besonders kohlenstoffreiche Moleküle erstrecken können. Gerade die Beobachtung, daß die Adsorbierbarkeit eines Adsorbendums mit der Länge der Kohlenstoffkette gesetzmäßig zunimmt, (Traubesche Regel), ist eine Stütze dieser Auffassung. Michaelis und Rona sehen das alle anderen Adsorbentien so weit übertreffende Adsorptionsvermögen des Kohlenstoffs quasi als Aequivalent für seine sonst bei niederen Temperaturen nur so geringe Reaktionsfähigkeit bezw. -geschwindigkeit an.

Um das Verhalten der Alkaloidsalze gegenüber Adsorbentien beurteilen zu können, sei kurz auf die Verhältnisse bei der Adsorption von Elektrolyten und elektrolytartigen Stoffen im allgemeinen eingegangen. Die Adsorption der Elektrolyte kann in drei verschiedenen Formen auftreten: 1. als eine Aequivalent-Adsorption, wenn bei der Adsorption, äquivalente Mengen des Anions und Kations adsorbiert werden; 2. als sogenannte „hydrolytische Adsorption" die in der Weise erfolgt, daß unter gleichzeitiger hydrolytischer Spaltung durch das Wasser das betreffende Salz in freie Säure gespalten und dann entweder nur die Base oder nur die Säure adsorbiert wird; 3. als „Austausch-Adsorption", bei der das zu adsorbierende Ion (Kation oder Anion) gegen ein in dem Adsorbens vorhandenes Ion ausgetauscht wird. — Im Vergleich mit der Adsorption der Nichtelektrolyte zeigt sich also bei der der Elektrolyte der Hauptunterschied zwischen beiden darin, daß bei den Elektrolyten zwei Teile des Adsorbendums, Kation und Anion, getrennt und unabhängig von einander adsorbiert werden. Dieser Unterschied in der Adsorption der beiden Ionenarten kann so weit gehen, daß

[1]) Biochem. Ztschr. 97, 57 1919. Kolloidztschr. 25. 225, 1919.

das eine Ion praktisch quantitativ aufgenommen wird, das andere ebenso quantitativ in Lösung bleibt. Selbstverständlich tritt hierbei aber keine wirkliche Trennung der Ionen ein, sondern es tritt stets für das adsorbierte Ion ein entsprechendes anderes in die Lösung ein. Früher, bevor die bereits erwähnten Arbeiten von Michaelis und Rona näheren Aufschluß über die Verhältnisse bei der Adsorption der Elektrolyte gaben, neigte man der Auffassung zu, es wären immer die aus dem Wasser stammenden Ionen, H·- oder OH·-Ionen, die an Stelle des adsorbierten Ions das in Lösung gebliebene Ion neutralisierten. Die Adsorption wäre also bei nicht äquivalenter Adsorption immer mit einer hydrolytischen Spaltung durch das Wasser verbunden. Aber nach neueren Arbeiten, speziell den eben erwähnten von Michaelis und Rona, scheint eine solche „hydrolytische" Adsorption nur äußerst selten vorzukommen. Weiter unten werden allerdings noch einige Beobachtungen, die ich bei meinen Versuchen machte, besprochen, die z. B. für die Adsorption der Alkaloidsalze wenigstens teilweise eine überwiegende Adsorption des Kations und damit doch eine Art „hydrolytischer" Adsorption als bis zu einem gewissen Grade neben einer „Austausch-Adsorption" bestehend annehmen lassen. In weitaus den meisten Fällen handelt es sich um Austausch-Adsorption. Das Ion, das zum Neutralisieren in die Lösung tritt, stammt vom Adsorbens. Entweder hat das Adsorbens den Charakter eines Elektrolyten, oder es enthält von vornherein Elektrolyte als Fremdstoffe adsorbiert, und es ist eins von deren Ionen, das in die Lösung geht. Infolgedessen ist es meist gar nicht H·- oder OH·-Ion, das man nachher in der Lösung findet. So tritt z. B. bei der Austausch-Adsorption an Kohle, Kaolin u. a. sehr häufig das Calcium-Ion, bei andern, wie z. B. beim Fe $(OH)_3$, das Cl-Ion als derartiges Ion auf. Freundlich vergleicht sehr treffend die polar adsorbierenden Adsorbentien mit den künstlichen amorphen Permutiten und den natürlichen Zeolithen und sagt, daß ähnlich wie diese

befähigt sind, das Kation irgend eines Elektrolyten aus einer Lösung aufzunehmen, während sie an diese dafür ein von vornherein in ihnen enthaltendes Kation abgeben, so seien auch die polar adsorbierenden Adsorbentien wahrscheinlich wohl derartige amorph-feste Elektrolyte mit einem trägen Ion, das sozusagen das Gerüst bildet, und einem beweglichen Ion. Im wesentlichen wird sich an dem Austausch dieses beweglichen Ions nur die an die Lösung grenzende Oberfläche beteiligen. Die Natur des trägen Ions macht sich geltend in der Ladung des Adsorbens: Ist das Anion träge, so ist das Adsorbens negativ geladen und umgekehrt; das polar adsorbierende Adsorbens ist also bestrebt, dasjenige Ion aufzunehmen, das die entgegengesetzte Ladung trägt. Die Ladung eines Adsorbens ist allerdings noch stark abhängig von einer eventuellen zufälligen Anwesenheit anderer Ionen, z. B. als Verunreinigungen.

Auch die sogenannten „Verdrängungserscheinungen", die dadurch gekennzeichnet sind, daß ein leicht adsorbierbarer Stoff einen anderen, bereits adsorbierten aber an sich schlechter adsorbierbaren vom Adsorbens verdrängt und selbst an dessen Stelle tritt, zeigen, wenn es sich um Elektrolyte handelt, ein anderes Bild als beim Nichtelektrolyten. So kann durch Zusatz eines Elektrolyten die Adsorption eines anderen nicht nur durch Verdrängung erniedrigt, sondern unter Umständen sogar gesteigert werden, richtiger gesagt, es kann die Adsorption eines Ions durch ein entgegengesetzt geladenes Ion gesteigert werden. So werden z. B. NaCl und $AlCl_3$ durch Blutkohle beide in einer Aequivalent-Adsorption aufgenommen, aber NaCl weit schwächer als $AlCl_3$; es wird also in einer NaCl-Lösung viel weniger Cl'-Ion adsorbiert, als in einer an Cl'-Ionen aequivalenten $AlCl_3$-Lösung. Versetzt man eine NaCl-Lösung mit $AlCl_3$, so wird in dieser gemischten Lösung viel mehr Cl'-Ion adsorbiert, weil eben das Al'''-Ion reichlich adsorbierbar ist und eine äquivalente Cl'-Menge mitnimmt. — Und da die Säuren so viel stärker adsorbiert werden als ihre Salze, so bewirkt ein Zusatz von H'-Ion zu einem Salz mit gleichem Anion eine ganz außerordentliche Steigerung des

Grades der Adsorption; Analog wirkt ein Zusatz von Alkali zu einem Salz mit gleichem Kation: z. B. wird die Adsorption der sauren Farbstoffe durch Zusatz von Säuren, die der basischen Farbstoffe durch Zusatz von Alkali stark erhöht.

Die außergewöhnlich gute Adsorbierbarkeit der Alkaloide veranlaßte schon seit langem manche Autoren, an den Alkaloiden die Adsorptionserscheinungen zu studieren. Freundlich und seine Mitarbeiter, in neuerer Zeit auch F. Simon [1]), zeigten in mehreren Arbeiten, daß es sich bei den Alkaloiden um ganz besonders typische Adsorptionserscheinungen handele, die durchweg gemäß der von Freundlich aufgestellten Adsorptions-Isotherme verlaufen. Freundlich wies vor allem nachdrücklichst auf die Parallelität zwischen Adsorbierbarkeit und Fällungsvermögen für Suspensionskolloide bei den Alkaloiden hin: die Kationen der Alkaloidsalze wirken nämlich auf Suspensionskolloide stärker fällend ein, als ihrer Wertigkeit entspricht. Freundlich zeigte nun [2]), daß hier ein enger Zusammenhang besteht zwischen Adsorbierbarkeit und Fällungsvermögen, insofern, als die für die Fällung der Sole wirksamsten Ionen auch gleichzeitig die am stärksten adsorbierbaren sind, die Fällung also stets mit einem Adsorptionsvorgang verbunden ist.

Interessante Einzelheiten über die Adsorptionsvorgänge bei Alkaloiden lieferten auch die Arbeiten von Berczeller und seinen Mitarbeitern [3]). Sie beobachteten, gerade beim Studium der Asdorption von Alkaloidsalzlösungen einen deutlichen Zusammenhang zwischen Oberflächenspannung und Adsorbierbarkeit, insofern, als das Alkaloid, das die Oberflächenspannung des Lösungsmittels am meisten erniedrigt, auch am stärksten adsorbiert wird. Ihre Versuche stellten eine Fortsetzung der von Traube [4]) gemachten, bereits auf Seite 4 erwähnten Feststellung dar, daß ein Zusatz von basischen Salzen (z. B. Na_2CO_3,) zu Alkaloidsalzlösungen

[1]) Inaug. Dissertation Marburg 1923.
[2]) Ztschr. f. physikal. Chemie 73, 1910, 385.
[3]) Biochem. Ztschr. 58, 1913, 238.
[4]) Biochem. Ztschr. 42, 1912, S. 470.

deren Oberflächenspannung erniedrigt und ergänzten die Ergebnisse Traubes dadurch, daß sie derartige mit einem Alkali versetzte Alkaloidsalzlösungen einer Adsorption unterwarfen und vor und nach dem Schütteln mit dem Adsorbens die Oberflächenspannung bestimmten. Die Alkaloide liegen, wie dies nach den eingehenden Versuchen von Wein [1]) über die Löslichkeitsverhältnisse der Alkaloide durchaus verständlich erscheint, in der mit Alkali versetzten Lösung, wenigstens zu einem gewissen Grade, in einer übersättigten Lösung als freie Base vor und Berczeller fand nun, daß ein Alkaloid umso stärker adsorbiert wird, je geringer seine Löslichkeit in der alkalischen Lösung ist und außerdem, je stärker der Zusatz des Alkali die Oberflächenspannung herabsetzt. Vielleicht handelt es sich bei den erwähnten übersättigten Lösungen auch, wie Berczeller u. Seiner [2]) vermuten, um Zustandekommen kolloidaler Lösungen, in denen die Alkaloide in amorpher kolloider Form besonders stark die Oberflächenspannung erniedrigen.

Diese Erhöhung der Adsorbierbarkeit der Alkaloide in schwach alkalischen Medien ist, wie weiter unten näher ausgeführt werden wird, für die Adsorption von Alkaloiden im Erdboden von großer Bedeutung.

Eine weitere Erklärung für die starke Adsorbierbarkeit der Alkaloide ist wohl auch in der öfter schon gemachten Beobachtung zu suchen, daß alle aromatischen Verbindungen allgemein eine stärkere Adsorbierbarkeit zeigen, als die aliphatischen. Auch die oben erwähnte „Traubesche Regel“ trifft, wenigstens angenähert, für die Alkaloide zu, insofern, als deutlich, wie es auch die später zu beschreibenden Versuche bestätigten, die Adsorbierbarkeit mit steigendem Molekulargewicht wächst.

Daß im Erdboden Adsorptionsvorgänge eine ganz außerordentliche Rolle spielen, ist seit langem, vor allem durch die klassischen Arbeiten von van Bemmelen, bekannt.

[1]) Dissertation München 1911.

[2]) Biochem. Ztschr. 84, 1917, S. 80.

Fast alle Vorgänge im Vegetationsboden sind mit Adsorptionsvorgängen irgendwelcher Art verknüpft. Hier sei nur kurz verwiesen auf die starke Adsorption von NH_3 und auch Luftsauerstoff, die es ermöglicht, diese für den Stoffwechsel des Bodens und der Pflanzen wertvollen Gase zu speichern und zur langsamen Umsetzung dann wieder abzugeben, sowie auf die für den Stoffumsatz wichtige Adsorption von CO_2 und Wasserdampf an die Silikate des Bodens, wodurch eine langsame Zersetzung der Silikate des Bodens und die Bildung von Bikarbonaten und Kieselsäure resp. saurer Silikate eingeleitet wird, von denen dann die löslichen Birkarbonate bezw. Karbonate fortgeführt und verbraucht werden können. Ferner sei noch auf den für das Pflanzenwachstum so wichtigen „Basenaustausch" hingewiesen, der auch zum Teil als Austausch-Adsorptionsvorgang zu deuten oder doch wenigstens mit einem solchem in Parallele zu setzen ist.

Alle Bestandteile des Bodens können mehr oder weniger als Adsorbentien fungieren. Vor allem zeichnen sich die zahlreichen Kolloide (kolloide Silikate, Eisenoxyd, Kieselsäure, Humussubstanzen), und unter diesen besonders die Humusstoffe, durch starkes Adsorptionsvermögen aus. Eisenoxyd und Kieselsäure kommen im normalen Boden nur in so geringer Menge vor, daß ihre Wirkung als Adsorbentien wohl kaum in beträchtlichem Maße hervortreten kann. Nach v. Bemmelen[1]) haben die kolloiden Silikate, deren Anwesenheit den Boden zum „Tonboden" macht, den Hauptanteil an den Adsorptionsvorgängen im Boden. Sie können in ausgedehntem Maße freie Alkalien, freie alkalische Erden und Ammoniak aus einer Lösung adsorbieren und außerdem bei der Berührung mit Salzlösungen die verschiedesten Arten von „Austausch" hervorrufen, die natürlich nicht allein von ihrer Masse, sondern auch von der jeweiligen Zusammensetzung abhängig sind. Da genauere Untersuchungen über die Menge und die Zusammensetzung

[1]) v. Bemmelen, Die Absorption 1910. S. 115.

dieser kolloiden Silikate noch fehlen, lassen sich auch genaue Angaben über ihren Anteil an der Adsorptionskraft des Bodens noch nicht machen, zumal auch das Adsorptionsvermögen dieser Silikate in den verschiedenen Böden naturgemäß schon verschieden sein muß durch den verschiedenen Grad der „Sättigung“ der einzelnen Böden mit Basen. Weniger „gesättigte“ Böden werden natürlich stärker adsorbieren können. Eine Adsorption ohne Auswechselung, also z. B. von Salzen, ist bei den kolloiden Silikaten (nach Versuchen von Rautenberg u. v. Bemmelen) nur in geringem Umfange möglich.

Ueber den chemischen Charakter und die Zusammensetzung der sogenannten Humussubstanzen ist bis jetzt endgültig Bestimmtes noch nichts zu sagen. Nach dem derzeitigen Stande der einschlägigen Literatur (v. Bemmelen, Baumann, Ehrenberg, Ramann u. a.) faßt man unter der Bezeichnung ein Gemenge kolloider Zersetzungsprodukte von Pflanzenüberresten zusammen, die je nach ihrer Entstehungsweise eine sehr verschiedene Zusammensetzung haben. Alle Anstrengungen, die man gemacht hat, um sie durch Lösungsmittel, Wasser, Alkohol, Säuren, Alkalien, durch Abscheiden aus ihren Lösungen mittels einer Säure oder mittels Metallsalzen (als Kupfer- oder Bleiverbindung) in chemische Individuen zu trennen, sind ergebnislos geblieben. Geinsäure, Krensäure, Apokrensäure, Ulmussäure, Ulmin und Humin sind keine einheitlichen Substanzen und den dafür angegebenen Formeln ist kein Wert beizulegen. Die Humussubstanzen sind amorph und sämtlich kolloider Natur, aus kolloiden Substanzen durch die verschiedensten Umsetzungen, Spaltungen und Oxydationen entstanden und haben außerdem molekulare Modifikationen erlitten. Da alle diese Veränderungen in verschiedenem Umfange, je nach den zeitlichen Umständen von Feuchtigkeit, Luftzutritt, Temperatur, Licht und wahrscheinlich auch von gewissen Fermenten abhängig sind, so trifft man Humussubstanzen in der Natur in allen Stadien an. Die braunen, ulminartigen,

scheinen das Produkt weitergehender Oxydation zu sein als die schwarzen, huminartigen Substanzen. Da alle diese Humusstoffe, in kolloider Form vorliegen, so besitzen sie natürlich ein außerordentlich hohes Adsorptionsvermögen; sie besitzen träge Anionen und bewegliche Kationen, adsorbieren infolgedessen im Wege eines Austausches vornehmlich Kationen. Auch der Moostorf und das Moos (Sphagnum-Arten) selbst sind zu einer derartigen Adsorption in hohem Maße befähigt; sie adsorbieren ebenfalls aus Salzlösungen wesentlich die Kationen und geben dafür H·-Ion und andere Kationen an die Lösung ab. Die seiner Zeit von Devaux [1] beobachtete austauschende Aufnahme von Kationen an Zellgewebe von Pflanzen (auch lebenden) ist wohl ebenfalls als eine derartige Adsorption zu deuten. Auf dieses besonders starke Adsorptionsvermögen der Humusstoffe und dergl. für Kationen ist sicherlich auch die starke Adsorption der Alkaloide zurückzuführen.

Auch die kristallinischen Bestandteile des Bodens tragen zur Adsorption im Boden bei, doch tritt ihr Einfluß auf das Adsorptionsbild gegenüber den kolloiden Bestandteilen weit zurück. Neuere Arbeiten, z. B. von Grenville A. J. Cole [2]), zeigten, wie dies zu erwarten war, daß das Adsorptionsvermögen der kristallinen Mineralien deutlich proportional ist dem Grade ihrer Zerkleinerung und mehr und mehr zunimmt, je mehr sich auch diese Bestandteile dem kolloiden Zustande nähern. — Einige andere neuere Arbeiten, speziell von Marc [3]), lassen mit einiger Sicherheit vermuten, daß bei der Adsorption an kristalline Adsorbentien der Grad und die Reihenfolge der Adsorption für verschiedene Adsorbenda weit mehr eine Funktion der kristallographischen Natur der adsorbierenden Fläche, nicht so sehr der chemischen Natur des Adsorbens ist, derart,

---

[1]) Comt. rend. 162, 561 (1916).

[2]) Nature 112, S. 205 Dublin 1923.

[3]) Ztschr, f. phys. Chemie 75, 730 (1911).

daß anscheinend kristalline Adsorbentien wesentlich nur solche — wahrhaft gelösten — Stoffe adsorbieren, die mit ihnen isomorph oder doch wenigstens homoeomorph sind.

Hier wäre auch noch darauf hinzuweisen, daß der bereits erwähnte Austausch bei Zeolithen bei manchen Böden, die Zeolithe oder zeolithartige Silikate in beträchtlichem Umfange enthalten, gemäß der oben erwähnten Auffassung dieses Austausches als Austausch - Adsorption ein durchaus beachtenswerter Faktor für das Bild der Adsorptionsvorgänge im Boden werden kann.

Der natürliche Boden bildet nun einen so innigen Komplex dieser Kolloide und Kristalloide, daß es unmöglich wäre, deren Wirkung bei den Adsorptionsvorgängen im Boden von einander zu trennen. Zum Teil werden die Adsorptionen an die verschiedenen Bestandteile unbeeinflußt nebeneinander verlaufen, zum Teil müssen sich aber durch die innige Berührung der verschiedenen Systeme Komplikationen ergeben, so z. B. schon dadurch, daß kolloide Stoffe sowohl als Adsorbentien wie auch als Adsorbenda fungieren können, — wodurch es ausgeschlossen ist, den Ablauf der Adsorbtionsvorgänge im Boden als einer Gesetzmäßigkeit, wie etwa der Adsorptions-Isotherme, gemäß vor sich gehend darzustellen.

Es galt also bei der dieser Arbeit zugrunde liegenden Fragestellung, das Verschwinden der Alkaloide im Boden für den üblichen Nachweis dadurch als Adsorptionserscheinungen zu erklären, daß das äußere Bild der beobachteten Vorgänge einwandfrei den Habitus einer typischen Adsorption zeigt. Dreierlei äußere Kriterien, die auch durch eigene Versuche festgestellt werden konnten, kommen da als solche Kennzeichen einer Adsorption in Betracht: 1. Die Einstellung eines Gleichgewichtszustandes, 2. die Abhängigkeit des Umfanges der Adsorption von der Molekulargröße des Adsorbendums (Traubesche Regel) und 3. die Erscheinung, daß aus verdünnteren Lösungen relativ mehr adsorbiert wird als aus konzentrierteren.

Im Folgenden sei eine kurze Uebersicht über die angestellten Versuche und die ihnen zugrunde liegenden Ueberlegungen gegeben.

Zunächst wurden die von Lavialle gemachten Versuche in Töpfen genau wiederholt und zwar wurde für jedes Alkaloid — benutzt wurden: Strychninnitrat, Morphinhydrochlorid und Chininhydrochlorid — je ein Topf mit sterilisierter und einer mit nicht sterilisierter Erde angesetzt. Angewandt wurde, wie auch bei Lavialle's Versuchen, eine normale Gartenerde. Von einer Bepflanzung der Töpfe wurde, auf Grund der eingangs erwähnten Erörterungen, ganz abgesehen. Die angewandten Alkaloidmengen betrugen 0,5—1,0 g pro Topf (mit durchschnittlich etwa 1 kg Erde). Nach 3—4 Monaten wurde die Erde auf ihren Alkaloidgehalt untersucht und zwar derart, daß jeweils 1/10 der Erde eines Topfes (also 50—100 mg angewandtem Alkaloid entsprechend) zuerst eine Stunde lang bei dauernd schwach mineralsaurer (H_2SO_4) Reaktion mit 100—150 ccm Wasser geschüttelt und dann das Filtrat auf Alkaloidgehalt untersucht wurde, und darauf die gleiche Erdmenge noch nach Stas-Otto untersucht wurde. Das Ergebnis war in 15 von 18 Versuchen absolut negativ, nur bei 3 Versuchen (es handelte sich bei ihnen um Strychninnitrat in sterilisierter Erde) ergab die sorgfältige Extraktion nach Stas-Otto, nicht aber die saure wässerige Ausschüttelung, einen zwar positiven, aber immerhin noch relativ schwach qualitativen Nachweis von Alkaloid. Ein Unterschied im Verhalten der Alkaloide gegenüber sterilisierter oder nicht sterilisierter Erde, wie Lavialle ihn beobachtet haben will, konnte nicht festgestellt werden.

Die Erscheinung, daß nach dem Stas-Otto-Gang eher Alkaloid wiedergefunden wird als bei der sauren wässerigen Ausschüttelung, die auch in späteren Versuchen (z. B. Tab. 1. Versuche 2 u. 5) immer wieder beobachtet wurde, läßt sich zwanglos erklären: Bekanntlich ist die Adsorption in organischen Lösungsmitteln im Vergleich zu der in wässerigen Lösungen nur sehr gering; durch das wiederholte Auswaschen

mit organischen Lösungsmitteln — bei den Versuchen wurde viermal mit frischem Alkohol extrahiert — gelingt es deshalb, das adsorbierte Alkaloid vom Adsorbens, wenigstens teilweise, zu trennen und nachweisbar zu machen. Beim Strychnin gelingt dies Auswaschen anscheinend leichter als beim Morphin und Chinin. In späteren Versuchen, die eine weitere Veranschaulichung dieser Erscheinung zum Zweck hatten, zeigte sich, daß aus den gleichen Gründen eine zwei- bis dreimalige Behandlung der betreffenden Erde mit Chloroform nach Durchtränkung mit Na_2CO_3-Lösung weit besser das adsorbierte Strychnin nachweisen läßt, als nacheinander vorgenommenes längeres Ausschütteln mit säurehaltigem Wasser und Extraktion nach dem Stas-Otto-Gang. Die Ergebnisse sind im Anhang Seite V Nr. 120 gegenübergestellt. Der Ausfall dieser Versuche sprach also schon für die Annahme von Adsorptionsvorgängen.

Von der Ueberlegung ausgehend, daß diese von Lavialle gewählte Versuchsanordnung, bei der er eine Alkaloidlösung mit der gesamten benutzten Erde sorgfältig mischte, den in toxikologischen Fällen vorliegenden Verhältnissen, wo eventuell durch einsickerndes Regenwasser oder Steigen des Grundwassers Giftstoffe aus Leichen oder dergl. ausgelaugt und in die benachbarte Erde übergeführt werden können, nicht ganz entsprach, wurde für weitere Versuche die Versuchsanordnung so gewählt, daß eine Alkaloidlösung durch verschieden hohe Schichten Erde durchsickerte. Es wurden Rohre aus Jenaer Glas benutzt, die eine Weite von 18 mm besaßen (bei dieser Weite entsprach in etwa, abgesehen von Schwankungen, die durch das verschiedene spezifische Gewicht und Korngröße der benutzten Böden hervorgerufen wurden, eine 1 cm hohe Schicht einem Gramm Erde). Die Versuche wurden mit zwei verschiedenen Bodenarten durchgeführt, einem schwach alkalischen und einem deutlich saueren. Die schwach alkalische Erde war die gleiche, die auch für die Topfversuche benutzt worden war. Die saure Erde stammte von einer Waldlichtung, deren Vege-

tation (grosse Mengen Sphagnum, Drosera und sehr kümmerlich wachsende Fichten) schon auf sauren Boden schließen ließ. Als wichtigstes Ergebnis brachten die Versuche die Feststellung, daß die Adsorption der Alkaloide im schwach alkalischen Boden eine viel stärkere ist, als im sauren. Das erklärt sich in Anlehnung an die oben erwähnten Ueberlegungen und Beobachtungen von Traube und Berczeller sehr leicht dadurch, daß eben in schwach alkalischem Boden durch den Basengehalt des Bodens ganz ähnliche Verhältnisse vorliegen wie sie die erwähnten Autoren durch Zusatz von Na_2CO_3 etc. zu Alkaloidsalzlösungen erreichten: beträchtliche Steigerung der Adsorbierbarkeit infolge Bildung von übersättigten Lösungen der Alkaloide in basischer und deshalb besonders oberflächenaktiver und besonders adsorbierbarer Form. Der schwach alkalische Boden zeigte einen P_H : 7, 5—7, 8, der saure einen solchen von (P_H : 4,5). Die Bestimmung des P_H erfolgte nach Sörensen mit den Indikatoren von Clark und Lubs unter Ausschaltung der Eigenfarbe des Erdbodenauszugs nach dem Valpole'schen Prinzip.

Versuche, bei denen eine Mischung der beiden Bodensorten in verschiedenen Verhältnissen benutzt wurde (Anhang, Seite III. Nr. 116), zeigten besonders deutlich die starke Erhöhung der Adsorption durch den Anteil der alkalischen Erde: eine 5 cm hohe Schicht der sauren Erde z. B. vermochte aus 20 ccm 0,5%iger Strychninnitratlösung das Strychnin nicht völlig zu adsorbieren, während eine gleich hohe Schicht der gleichen Erde mit 1/3 Gehalt an alkalischer Erde eine quantitative Adsorption der gleichen Menge Srychninnitrat bewirkte. Der P_H der Mischungen aus der sauren und der alkalischen Erde blieb (vgl. die Tabelle 116 im Anhang) immer relativ sauer; offenbar war die „Pufferung" im sauren Boden besser als im alkalischen, sodaß der P_H des ersteren ausschlaggebend für den der Mischung blieb.

Um die Verteilung des adsorbierten Alkaloids in der Erdschicht nach Möglichkeit genauer festzustellen, wurden

Versuche — sowohl mit nicht sterilisierter Erde als auch mit sterilisierter — unter ganz gleichen Bedingungen vorgenommen und zwar die Erdschicht in Höhe und Zusammensetzung so gewählt, daß die angewandte Menge Alkaloid eben quantitativ adsorbiert wurde, und dann die Erde nach Aufhören des Durchsickerns in vier einzelnen Portionen sorgfältigst auf ihren Strychningehalt untersucht wurde, wieder, wie bei den Topfversuchen, sowohl durch Ausschüttelung mit säurehaltigem Wasser wie auch nach Stas-Otto. (Nähere Einzelheiten siehe Anhang, S. I—II, Tab. 1.) Es konnten so 53—61% der angewandten Alkaloidmenge wiedergefunden werden. Bei den ersten derartig quantitativ angelegten Versuchen mit sterilisierter Erde (Tab. 1, Versuch 12.) wurden in den ersten 5 ccm des Durchsickernden auffallender Weise noch 2,6 mg Strychninnitrat nachgewiesen, im weiter Durchsickernden blieb Strychnin dann aber negativ. Die ersten 5 ccm zeigten außerdem eine starke Gelb- bis Braunfärbung. Offenbar waren durch das Sterilisieren (1 Stunde lang bei 130° und 2 Atm. im Autoklaven) und das darauffolgende Trocknen bei ca. 70° die Kolloide des Bodens verändert worden und mußten nachher zur Wiedererlangung der vollen Adsorptionskraft erst wieder quellen. In den folgenden Versuchen wurde deshalb, sowohl bei der sterilisierten Erde, wie bei der nicht sterilisierten, um ganz gleiche Verhältnisse zu behalten, zunächst die Erde mit längere Zeit ausgekochtem Wasser getränkt. Dann blieb die bei den ersten Versuchen beobachtete Erscheinung aus. Im übrigen zeigte sich auch bei diesen Versuchen kein Unterschied im Verhalten der sterilisierten Erde den Alkaloiden gegenüber im Vergleich mit der nicht sterilisierten.

Allgemein wurde bei diesen Rohrversuchen, was durchaus erklärlich ist, beobachtet, daß die Stärke der Adsorption maßgeblich abhängig ist von der Feinheit der Krume und dem damit zusammenhängenden mehr oder weniger dichten Aufeinanderliegen der Partikeln. Je dichter die Teilchen aufeinander liegen, umso langsamer sickert die Flüssigkeit durch,

umso gründlicher ist dann natürlich auch die Adsorption.

Um nachzuweisen, daß sich beim Behandeln von Alkaloidsalzlösungen mit Erde sehr bald ein Gleichgewichtszustand zwischen Konzentration der Lösung und adsorbierterter Menge einstellt, wodurch die fraglichen Vorgänge eben als Adsorptionserscheinungen charakterisiert würden, wurde eine Reihe von 12 Versuchen in der Weise angelegt, daß jeweils die gleiche Menge Strychninnitratlösung mit je 10 g Erde (P_H : 4,5) verschieden lange Zeit (von 4 — 120 Minuten) geschüttelt wurde, dann abfiltriert und in jeweils 10 ccm des Filtrates der Gehalt an Strychninnitrat bestimmt wurde. Hierbei zeigte sich (Anhang, Seite IV Nr. 113), daß schon nach 7 Minuten langem Schütteln die Konzentration praktisch gleich blieb, also deutlich ein Gleichgewichtszustand erreicht wurde. Die geringen Schwankungen, die sich in den Versuchen 4 — 12 noch zeigten, sind wohl zwanglos dadurch zu erklären, daß 9 verschiedene Proben des gleichen Bodens schon so viel Unterschiede in der Zusammensetzung haben können, um diese Schwankungen in der Adsorption zu verursachen. Durchschnittlich wurden bei diesen Versuchen 86,5 % des angewandten Alkaloids adsorbiert.

Bei den Durchsickerversuchen wird das Adsorptionsgleichgewicht zwischen Alkaloidlösung und Erde wohl nur selten — bei ganz langsamem Durchsickern — auch nur annähernd erreicht. Versuche, bei denen die gleiche Menge Alkaloidlösung einmal durch eine bestimmte Menge Erde Durchsickerte, ein andermal mit der gleichen Menge Erde geschüttelt wurde, ergaben, daß im letzteren Falle 20 – 25 % mehr adsorbiert wurde, als beim Durchsickern. Die Versuchsanordnung des Durchsickerns wurde aber ja auch nur, wie oben erwähnt wurde, gewählt, um eine Anpassung an toxikologische Verhältnisse zu erreichen.

Auch eine stärkere Adsorption der Alkaloide mit höherem Molekulargewicht gegenüber solchen mit kleinerem zeigte sich bei den Versuchen. So erhellt z. B. aus einem Vergleich der Versuche Tab. 1, Nr. 115 a, b, c u. Tab. 1,

Vers. 12 u. 14 deutlich, daß Morphinhydrochlorid (Mol. Gew.: 321,6 ohne Kristallwasser) erheblich weniger adsorbiert wird als Strychninnitrat mit dem höheren Molekulargewicht (397). Daß bei den Versuchen Tab. 1, Vers. 3 u. 4 das Morphin in den tieferen Teilen der Erdschicht weniger nachweisbar war, als das Strychnin in den entsprechenden Parallelversuchen (Tab. 1, Vers. 2) erklärt sich vielleicht daraus, daß Morphin schwieriger isolierbar und nachweisbar ist als Strychnin.

Auch das dritte auf Seite 19 erwähnte äußere Kriterium für eine Adsorption wurde sowohl im allgemeinen wie auch durch besondere Versuche bestätigt gefunden: aus verdünnteren Lösungen wurde relativ mehr adsorbiert als aus konzentrierteren. So wurde z. B. bei drei Versuchen, bei denen im ersten 20 ccm 0,5%ige Strychninnitratlösung durch 5,0 g Erde (P_H: 4,5) sickerte, im zweiten 20 ccm 0,3%ige Lösung durch 3,0 g Erde und im dritten 20 ccm 0,2%ige Lösung durch 2,0 g Erde sickerte, wobei die Weite der benutzten Glasrohre der Erdmenge entsprechend ebenfalls reduziert wurde, sodaß gleiche Schichthöhe in allen drei Rohren und damit praktisch gleiche Durchsickerzeit erreicht wurde, durch Bestimmung des Strychningehaltes im Durchgesickerten gefunden, daß im ersten Falle 60 %, im zweiten schon 80 % und im dritten Versuch 90 % adsorbiert wurden. (Vgl. Anhang, Seite V, Nr 117).

Anschließend an diese letzt beschriebenen Versuche wurde versucht, aus derartig mit Strychninlösung behandeltem Boden das Strychnin durch Mikrosublimation direkt nachzuweisen, indem eine kleine Probe der betreffenden Erde (ca. 50 — 70 mg) mit wenig Na_2CO_3-Lösung durchfeuchtet und dann der Sublimation unterworfen wurde. Es zeigte sich, daß bei Anwendung des Verfahrens von Kempf[1]) bei Sublimation auf der elektrischen Heizplatte

1) Gadamer, Toxikologie 1924, 379.

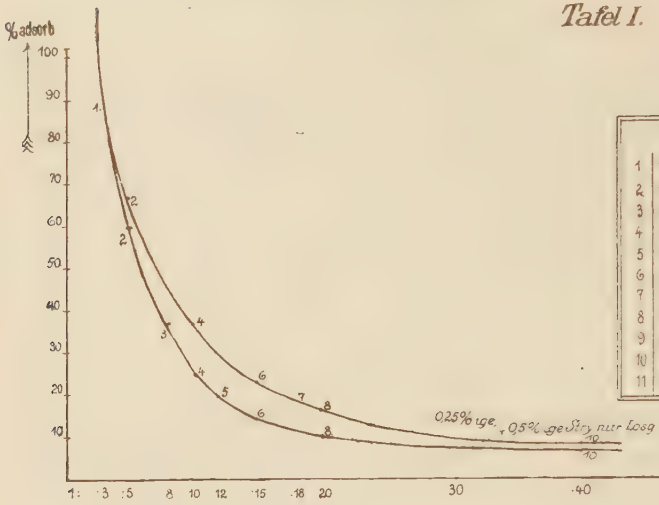
bei normalem Druck ein derartiger Nachweis nicht möglich war, während die Methode von Eder[1]) (Sublimation unter vermindertem Druck) noch Mengen von 0,06 — 0,07 Milligramm Strychnin in 60 — 70 Milligramm Erde durch ein wohl charakterisierbares Sublimat nachzuweisen gestattet, eine Tatsache, die für toxikologische Fälle eventuell von Bedeutung ist.

Um zum Vergleich zur Adsorption der Alkaloide an Erdboden in seiner natürlichen Mischung auch wenigstens für einige Bodenbestandteile allein deren Adsorptionsvermögen zu untersuchen, wurden dann entsprechende Versuche auch mit Sand und Kaolin (Bolus) ausgeführt. Für die Versuche mit Sand wurde „Seesand, gewaschen (Kahlbaum)" verwandt. Beim einfachen Durchsickern, das sehr rasch vor sich ging — schon nach ¾ — 1 Minute sickerten die ersten Anteile durch, — wurde eine nur geringe Adsorption (6 %) festgestellt; wurde dagegen die gleiche Menge Sand mit der gleichen Menge Alkaloidlösung eine Stunde lang geschüttelt, so betrug die Adsorption rund 30 %. Dieses in Hinsicht auf die doch ziemlich beträchtliche Teilchengröße des Sandes relativ starke Adsorptionsvermögen ist wohl so zu erklären, daß der Sand eben eine beträchtliche Menge Verunreinigungen — unter diesen auch zahlreiche austauschfähige Kationen — adsorbiert oder beigemengt enthielt, worauf hauptsächlich sein Adsorptionsvermögen zurückzuführen ist, während sein Hauptbestandteil SiO_2 allein nur eine ganz geringe Adsorption bewirken könnte. Die qualitative Analyse des benutzten Sandes ergab auch neben SiO_2 einen beträchtlichen Gehalt an $Fe^{\cdots}$, $Al^{\cdots}$, $Ca^{\cdot\cdot}$ (vermutlich aus Muschelkalk herstammend), ferner K und Na in Spuren, sowie CO_2. Die Vermutung, daß diese Verunreinigungen Ursache des starken Adsorptionsvermögens sei, wurde dadurch bestätigt, daß der Sand nach mehrmaligem Ausziehen mit heißer verdünnter HCl und darauffolgendem

[1]) ebenda.

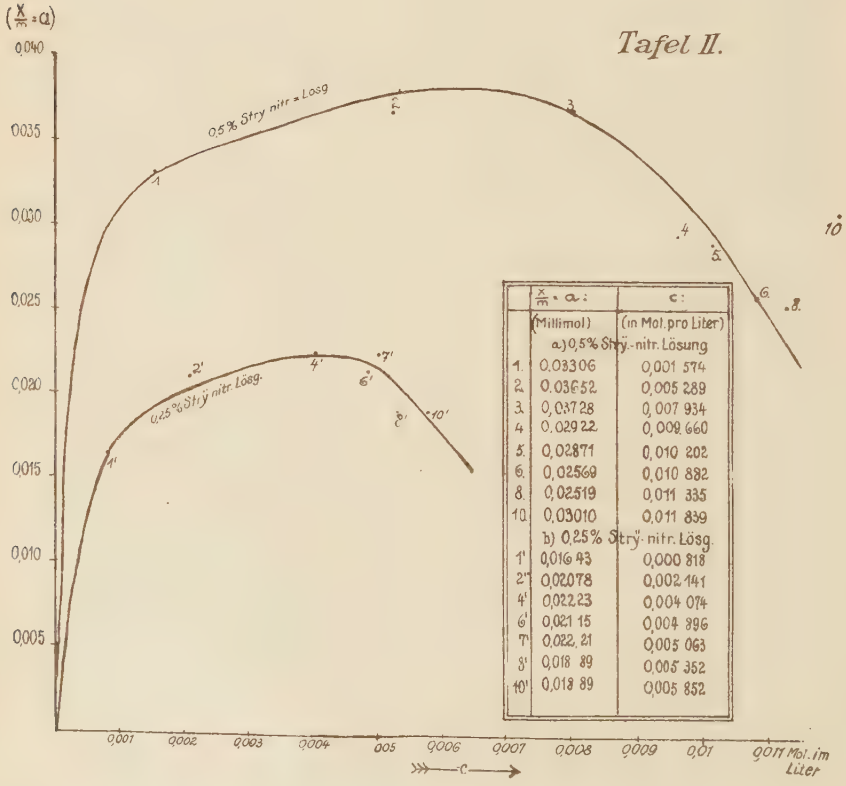
Adsorption von Strychninnitrat an Bolus

Tafel I.



		0,5% Lsg	0,25% Lsg
1	1 3	87,5%	87,5%
2	1 5	58 %	60%
3	1 8	37 %	–
4	1 10	23,3%	35,3%
5	1 12	19 %	–
6	1 15	13,6%	22,4%
7	1 18	–	19,6%
8	1 20	10 %	15 %
9	1 30	–	–
10	1 40	6 %	7,5%
11	1 50	–	–

Tafel II.



	x/m = a: (Millimol)	c: (in Mol. pro Liter)
	a) 0,5% Stry.-nitr. Lösung	
1.	0,03306	0,001 574
2.	0,03652	0,005 289
3.	0,03728	0,007 934
4	0,02922	0,009 660
5.	0,02871	0,010 202
6.	0,02569	0,010 882
8.	0,02519	0,011 335
10.	0,03010	0,011 839
	b) 0,25% Stry.-nitr. Lösg.	
1'	0,016 43	0,000 818
2'	0,02078	0,002 141
4'	0,02223	0,004 074
6'	0,021 15	0,004 896
7'	0,022, 21	0,005 063
8'	0,018 89	0,005 352
10'	0,018 89	0,005 852

erschöpfendem Auswaschen und Trocknen sowohl beim Durchsickern wie beim Schütteln mit der Alkaloidlösung in dieser nur eine Minderung des Gehaltes um 4 % bewirkte.

Bei den Versuchen mit Kaolin war es nicht möglich, Sickerversuche anzustellen, da der Kaolin im Glasrohr leicht zu einer undurchlässigen tonigen Masse zusammenbackte. Deshalb wurden nur Adsorbtionsversuche durch Schütteln von verschieden starken Alkaloid- (Strychninnitrat)- lösungen mit verschiedenen Mengen Adsorbens angestellt. Als Adsorbens wurde, wie bei ähnlichen Versuchen von Freundlich u. Poser[1]) „Bolus, sterilisiert, Merck" benutzt. Die qualitative Analyse ergab, wie auch Freundlich und Poser bei dem von ihnen benutzten Material fanden, einen gewissen Gehalt an $Fe^{...}$ und $Ca^{..}$ sowie Spuren von Karbonaten ($CaCO_3$). Da die für die Versuche mit 0,5 %iger Strychninnitratlösung benutzte Bolusmenge gleichzeitig auch für die mit 0,25%iger Strychninnitratlösung nicht ausreichte, wurde dafür eine neue Menge des gleichen Präparates benutzt, die zwar in der qualitativen Analyse keine andere Zusammensetzung zeigte als der zuerst benutzte Bolus, sich offenbar in der quantitativen Zusammensetzung aber doch wohl vom ersten unterschied, da sein Adsorptionsvermögen von dem des ersten abwich.

Das Ergebnis der Versuche ist aus beiliegender graphischer Darstellung Tafel 1 zu ersehen; die eingezeichneten Werte stellen jeweils das Mittel aus 3—4 Gehaltsbestimmungen in der vom Bolus abfiltrierten Strychninnitratlösung dar. Die Versuche zeigen auch in sehr deutlicher Weise, wie aus der 0,25 %igen Lösung mit Ausnahme der Grenzfälle, wo — zurückzuführen auf Ungenauigkeit selbst der Mikrotitration — kein erheblicher Unterschied im Grade der Adsorption mehr hervortritt, immer relativ mehr adsorbiert wird als aus der 0,5 %igen.

Aus den aus diesen Versuchen gewonnenen Werten wurde dann jeweils sowohl das Verhältnis von adsorbierter

1) Kolloidchem. Beihefte VI., Dez. 14.

Menge zu einem Gramm Adsorbens, ausgedrückt in Millimol, als auch die Endkonzentrationen, ausgedrückt in Mol im Liter, berechnet, um durch graphische Darstellung festzustellen, ob die beobachteten Adsorptionserscheinungen der Freundlichschen Adsorptions-Isotherme gehorchen, die sonst als die Formel typischer Adsorptionsvorgänge gilt. Tafel II zeigt sowohl die sich aus den Versuchen ergebenden Werte für $\frac{x}{m}$ und c, sowie die Eintragung dieser Werte in ein Koordinatensystem. Sie zeigt, daß das Bild der entstehenden Kurven, deren Verlauf trotz der starken Streuung der gefundenen Werte dem Sinne nach doch deutlich hervortritt, ganz offensichtlich von dem Verlauf einer normalen Adsorptions-Isotherme abweicht! Deutlich wird ein Maximum erreicht und dann nimmt bei noch höheren Konzentrationen die Adsorption wieder ab! Dieses anormale Verhalten des Strychnins wurde auch schon von Freundlich beobachtet. Erstmalig bei der Adsorption von Strychninnitrat an As_2S_3 [1]), wo auch ein Abnehmen der $\frac{x}{m}$-Werte bei steigender Konzentration nach erst normalem Ansteigen der Kurve zu verzeichnen war. Freundlich weist in dieser Arbeit darauf hin, daß es sich nicht um etwas Zufälliges oder Irrtümliches handeln könne, da er bei zahlreichen Versuchsreihen, auch mit Kohle als Adsorbens, die gleiche Beobachtung gemacht habe. Und in einer späteren Arbeit [2]) beobachtete er auch bei der Adsorption durch Bolus das gleiche abweichende Verhalten des Strychnins.

Daraus, daß die beiden Kurven in Tafel II für die Versuche mit 0,5 %iger und die mit 0,25 %iger Lösung nicht zusammen, sondern zwar ganz gleichsinnig, aber ganz unabhängig von einander verlaufen, erhellt sehr deutlich der starke Einfluß der oben erwähnten Unterschiede in der Zusammensetzung des Bolus auf das Bild der Ad-

[1]) Ztschr. physik Chemie 73, 1910, 399.

[2]) Freundlich u. Poser, Kolloidchem. Beihefte VI, Dez. 14, 309.

sorption. Auch die Kurve, die sich aus den Ergebnissen der letzt gennannten Arbeit von Freundlich für die Adsorption von Strychninnitrat an Bolus ergibt, zeigt zwar auch deutlich einen ähnlichen Auf- und Abstieg, ist aber flacher. Es erhellt daraus, daß jede Bolusvarietät einen besonderen Kurvenverlauf hat, und es folgt auch daraus, daß für das Adsorptionsvermögen des Bolus offenbar die nur in geringen, aber wechselnden Mengen beigemengten Verunreinigungen ausschlaggebend sind, nicht das Aluminiumsilikat, sein Hauptbestandteil. Denn die Adsorption an Bolus ist eben auch als eine reine „Austausch-Adsorption" aufzufassen. Das geht am deutlichsten ja auch aus der schon früher von den verschiedensten Autoren beobachteten Tatsache hervor, daß er zu einer Adsorption von Nichtelektrolyten überhaupt nicht fähig ist. Es werden also auch hier in den angestellten Versuchen die Verunreinigungen des Bolus, und zwar deren austauschbare Kationen, die Urheber der Adsorption sein.

Zu einem gewissen — allerdings nicht sehr beträchtlichen — Teil scheint aber, sowohl bei den zahlreichen obigen Versuchen mit Kaolin wie auch bei denen mit Sand und mit Erde, die Adsorption nicht lediglich als Austausch-Adsorption sondern daneben auch als eine Art hydrolytischer Adsorption zu verlaufen, insofern, als eine merklich stärkere Adsorption von Kationen der Alkaloidsalze beobachtet wurde. Es zeigte sich das bei den Versuchen dadurch, daß die mit dem Adsorbens behandelte Lösung nachher in zahlreichen Fällen eine deutlich saure Reaktion angenommen hatte. Das erklärt sich wohl so, daß sich ein Dissoziationsvorgang im Sinne folgender Gleichung abspielte:

$$[\text{Alkaloid} \,.\, \text{H}]^{\cdot}\ \text{No}_3{}' + \text{H}_2\text{O} =$$
$$\underbrace{[\text{Alkaloid} \,.\, \text{H}]^{\cdot} + \text{OH}' + \text{H}^{\cdot}}_{\text{Alkaloid} + \text{H}_2\text{O}} + \text{NO}_3{}'$$

Einen beträchtlichen Umfang konnte diese „hydrolytische Adsorption" allerdings in keinem Falle angenommen haben, da sich die Azidität nur durch eine Zunahme der H·-

Konzentration äußerte, aber so gering war, daß sie azidimetrisch, durch Titration, nicht deutlich faßbar war. Eine Titration (mit $\frac{n}{10}$ NaOH) wurde zu Hilfe genommen, um evtl. nachzuweisen, ob die nach dem Schütteln einer Strychninnitratlösung mit Erde (P_H: 4,5) in der Lösung vorhandene Azidität die eines gleichen Volumens Wasser nach dem Schütteln mit der gleichen Menge Erde übertreffe, also die dem Wasser bezw. der Strychninnitratlösung vom sauren Boden mitgeteilte Azidität evtl. durch eine hydrolytische Dissoziation des Strychninsalzes erhöht sei. Tatsächlich wurde bei einer Reihe von derartigen Versuchen gefunden, daß z. B. 10 ccm vom Filtrat einer Anschüttelung von 30 ccm 0,5%iger Strychninnitratlösung mit 10 g Erde immer 0,1 ccm $\frac{n}{10}$ Alkali mehr zur Neutralisation verbrauchten als 10 ccm Filtrat einer Anschüttelung von 30 ccm reinem Wasser mit 10 g der gleichen Erde. Die 0,1 ccm $\frac{n}{10}$ Alkali würden, auf 30 ccm berechnet, etwa 12 mg Strychninnitrat entsprechen; insgesamt wurden aber bei diesen Versuchen (vgl. Versuch 113) etwa 140 mg Strychninnitrat durch 10 g Erde adsorbiert, man sieht daraus, daß in überwiegendem Maße also doch eine Austausch-Adsorption erfolgt sein muß.

Zusammenfassung:

Das von Lavialle beobachtete scheinbare Verschwinden von Alkaloiden, die als Salze zu Bodenerde zugesetzt wurden, ist auf eine weitgehende Adsorption der Alkaloide durch die Bestandteile des Bodens, nicht aber auf eine Zerstörung der Alkaloide durch Bodenbakterien zurückzuführen.

Es wurde ein deutlicher Zusammenhang zwischem dem P_H des Bodens und seinem Adsorptionsvermögen festgestellt, derart, daß in alkalischem Medium die Adsorption beträchtlich stärker ist. — Zum Vergleich wurden auch die Adsorptionsvorgänge an einzelnen Bodenbestandteilen (Kaolin, Sand) für sich durch Versuchsreihen beleuchtet. — Die Ergebnisse der Versuche lassen die Adsorption der Alkaloidsalze in der Hauptsache als eine typische „Austausch-Adsorption“, wie

sie bei Elektrolyten Regel ist, erscheinen, zu einem geringen Teil scheint auch eine „hydrolytische Adsorption“ daneben aufzutreten. — Für den toxikologischen Nachweis von Alkaloiden im Boden bietet ein besonders sorgfältiger Stas-Otto-Gang (mehrmaliges Ausziehen mit Alkohol oder, je nach Lage des Falles, mit einem anderen organischen Lösungsmittel) weit bessere Aussichten, das Alkaloid nachweisen zu können, als Anschüttelung mit säurehaltigem Wasser. — Vielleicht würde in manchen Fällen auch die Trennung vom Adsorbens durch „Verdrängung“ durch ein anderes, noch leichter adsorbierbares Kation zum Ziele führen.

II.

Unter den für den forensischen Chemiker wichtigen Alkaloiden nimmt das Morphin vor allem infolge seiner häufigen Anwendung als Arzneimittel, aber auch als Ursache zahlreicher fahrlässiger oder absichtlicher Vergiftungen eine besondere Stellung ein und gewinnt sein Nachweis besondere Bedeutung. An und für sich bietet der Nachweis des Morphins gegenüber dem anderer Alkaloide keine größeren Schwierigkeiten, nur macht sich, und das gilt vor allem für den quantitativen Nachweis, das Fehlen eines wirklich gut brauchbaren Ausschüttelungsmittels für Morphin unangenehm bemerkbar. In weiter unten beschriebenen Versuchen wurde versucht, diesem Uebelstande dadurch abzuhelfen, daß das Morphin einer Benzoylierung unterworfen und dadurch ätherlöslich gemacht wurde.

Toxikologischer Nachweis des Morphins.

Für den toxikologischen Nachweis aber erheben sich beträchtliche Schwierigkeiten, einmal, weil die Isolierung und Reindarstellung aus toxikologischem Material (Leichenteilen, Körperflüssigkeiten und dergl.) große Geschicklichkeit und

Uebung erfordert, ferner aber besonders deshalb, weil mit der Frage des toxikologischen Nachweises untrennbar verknüpft ist die Frage nach dem Schicksal des Morphins im Organismus, eine Frage, die trotz sehr zahlreicher Arbeiten auf diesem Gebiet einer klaren, eindeutigen Beantwortung noch entbehrt. Der Umstand, daß sich nach Vergiftungen mit Morphin immer ein beträchtlicher Teil des einverleibten Alkaloides dem Nachweis entzog, dessen Nichtauffindbarkeit unmöglich allein mit den Schwierigkeiten der Isolierung und Reinigung erklärt werden konnte, ließ schon früh die Ansicht aufkommen, daß das Morphin im Organismus irgendwelche Umwandlungen durchmachen müsse, die es dem Nachweis entzögen. Die am meisten beachtete und auch heute noch wenig angefochtene Arbeit über diese Frage veröffentlichte 1896 Ed. Marquis[1]), der in zahlreichen Versuchen an Katzen, die mit je 0,06 g Morphinhydrochlorid intravenös vergiftet waren, neben unverändertem Morphin noch ein „gepaartes" Morphin in Gehirn, Rückenmark, Milz und Blut und ein „umgewandeltes" Morphin in Leber und Nieren, seltener im Darm gefunden haben will. Beide Umwandlungsprodukte sollen sich hinsichtlich der Isolierung genau so verhalten wie Morphin selbst; als charakteristische Eigenschaften der Umwandlungsprodukte gibt Marquis an, daß das „gepaarte" Morphin „farblos aussehe, im Gegensatz zu unverändertem Morphin mit dem Formalin-Reagens überhaupt keine Farbreaktion gebe, mit Kalium-Kadmiumjodid nicht die für Morphin typische Fällung gebe und durch Erhitzen mit verdünnten Säuren daraus unverändertes Morphin zurückgewonnen werden könne", das „umgewandelte" Morphin dagegen „schwach bräunlich bis deutlich braun gefärbt" (gewiß nach dem Grade der Umwandlung) sei, mit dem Formalin-Reagens eine grüne Farbreaktion gebe, mit Kalium-Kadmiumjodid ebenfalls keine typische Fällung gebe". Von einer Möglichkeit, auch aus diesem „umgewandelten" Morphin

[1]) Dissertation Dorpat 1896.

wieder unverändertes Morphin zurückzugewinnen, wie er dies bei dem „gepaarten“ Morphin gefunden haben will, spricht Marquis nicht. Irgendwelche Angaben über den Paarling des „gepaarten“ Morphins und die vermutliche Konstitution des „umgewandelten“ Morphins macht er nicht, sodaß es für den Chemiker schwer hält, sich eine Vorstellung von diesen beiden Umwandlungsprodukten zu machen. Beim „gepaarten“ Morphin läge nahe, an eine Paarung des Morphins mit Schwefelsäure zu denken, ähnlich etwa der Indoxylschwefelsäure; ein derartiger Morphinschwefelsäureester würde sich aber als saurer Ester nicht, wie Marquis es für sein „gepaartes“ Morphin angibt, hinsichtlich seiner Isolierung (Löslichkeit in organ. Lösungsmitteln etc.) genau wie Morphin verhalten können. Denkbar wäre dies für einen neutralen Ester mit einer einbasischen Säure, z. B. der Glykuronsäure, deren vermehrtes Auftreten im Harn nach Morphingaben ja auch schon des öfteren beobachtet wurde. So wurde z. B. von v. Mering und Musculus[1]), E. S. Sundvik[2]) und P. Mayer[3]) das Auftreten einer gepaarten Glykuronsäure nach Morphingaben beobachtet, ob aber der Paarling der Glykuronsäure Morphin sei, was die genannten Autoren vermuten, geht aus ihren Ergebnissen mit Sicherheit nicht hervor. — Was das von Marquis beschriebene „umgewandelte“ Morphin angeht, so liegt nach den obigen unzureichenden Angaben Marquis' die Vermutung nahe, daß es sich dabei wohl in der Hauptsache um Verunreinigungen (Peptone u. dergl.) handelt, wie sie bei derartigen toxikologischen Untersuchungen leicht störend auftreten. Der Umstand z. B., daß Marquis das „umgewandelte“ Morphin in der Leber, dem Hauptfundort, im Sommer, wo die Leber infolge Zersetzung besonders reich an Peptonen sein dürfte, auch immer regel-

[1]) Ber. 8, 662, 1875.
[2]) Malys Jahresber. d. Tierchemie 16, 76, 1887.
[3]) Berlin. Klin. Wochenschr. 36, 1899, S. 591 u. 617.

mäßig gefuuden haben will, gibt zu einer derartigen Deutung Anlaß.

Die Frage nach der Existenz und evtl. Beschaffenheit dieser Umwandlungsprodukte wurde deshalb erneut aufgegriffen und bei Gelegenheit der Nachprüfung einiger neuerer, im Folgenden zu besprechenden Arbeiten über den Nachweis des Morphins in Körperflüssigkeiten und Organen zum Gegenstand der Untersuchung gemacht.

Nach Angaben von Kobert [1]) soll im Harn neben unverändertem Morphin auch derartiges „gepaartes" und „umgewandeltes" Morphin vorkommen. Marquis selbst erwähnt das in seinen Versuchsprotokollen direkt nicht, gibt aber bei der ausführlichen Besprechung seines Untersuchungsganges für Harn eine ausdrückliche besondere Vorschrift für die Aufspaltung des „gepaarten" Morphins im Harn.[2]) Auf Grund dieser Angaben ist in allen heute üblichen Morphin-Isolierungsgängen zu Beginn der Extraktion des Untersuchungsmaterials eine kurze Behandlung mit verdünnter Säure auf dem Wasserbade eingeschaltet, wodurch etwa vorhandenes „gepaartes" Morphin in normales Morphin zurückverwandelt und somit nachweisbar werden soll. (Etwa vorhandenes „umgewandeltes" Morphin müßte sich — nach Marquis' Angaben — durch abweichenden Ausfall der Farbreaktion mit dem Formalin-Reagens anzeigen.) Diese Vorsichtsmaßnahme ist auch von Spaeth und Loofs in die Untersuchung von Harn eingeschaltet worden. In meinen, im Folgenden ausführlich beschriebenen Versuchen wurde nun, um evtl. vorhandenes derartiges „gepaartes" Morphin nachzuweisen, bei der Untersuchung des auf Anwesenheit von Morphin zu prüfenden Harnes wiederholt derart vorgegangen, daß eine Hälfte ohne diese Behandlung mit verdünnter Säure, die andere dagegen mit Einschaltung dieser Behandlung untersucht wurde. Nach den Marquis'schen bezw. Kobert'schen Angaben hätte sich dann im

[1]) zit. nach Gadamer, Toxikologie 1924, S. 542.
[2]) l. c. S. 28 u. 60.

ersten Falle etwa vorhandenes „gepaartes“ Morphin durch schwächeren Morphinnachweis gegenüber dem zweiten Falle anzeigen müssen, während etwa vorhandenes „umgewandeltes“ Morphin durch die abweichende Farbreaktion mit dem Formalinreagens (grün statt rotviolett) hätte erkennbar werden müssen. Es zeigte sich aber in keinem Falle irgend ein Unterschied, weder hinsichtlich der Farbe, noch auch in der Stärke und Deutlichkeit der Reaktion und damit keinerlei Anhalt für eine evtl. Anwesenheit von solchem „gepaarten“ oder „umgewandelten“ Morphin. Marquis will das „umgewandelte“ Morphin hauptsächlich aus der Leber seiner Versuchstiere isoliert haben und glaubt, in Anlehnung an ähnliche Angaben von Roger [1]), daß „die Hauptursache oder wenigstens eine der Ursachen für die Umwandlung des Morphins in der Leber in der Glykogenanwesenheit zu suchen ist“. Daß die Leber bei dem Abwehrkampfe des Organismus gegen einverleibtes Morphin eine Hauptrolle spielt, ist durch zahlreiche übereinstimmende Arbeiten dargelegt; in welcher Weise die Leber aber ihre Funktion ausübt, ist noch durchaus nicht klar gelegt. Auf die Möglichkeit eines Zusammenhanges zwischen Glykogengehalt der Leber und Morphin-„Zerstörung“ bezw. „-Umwandlung“ weisen auch zahlreiche neuere Arbeiten hin.

Marquis will sogar bei einem Versuch in vitro aus einem Gemisch von Zellenbrei einer normalen Leber, Glykogen und reinem Morphin nach mehrtägigem Digerieren bei ca. 20° solches „umgewandeltes“ Morphin isoliert haben. Dieser Versuch wurde von mir zweimal wiederholt. Benutzt wurde ganz schlachtfrische Leber von gut genährten Rindern. Das Ergebnis war beide Male negativ. Ein dem Marquis'schen „umgewandelten“ Morphin ähnliches Produkt ließ sich nicht isolieren, sondern nur unverändertes Morphin (78,5 bezw. 86,3% der zugesetzten Menge). Daß ein Teil des zugesetzten Morphins (21,5 bezw. 13,7 %) nicht wiedergefunden wurde, ist zu einem großen Teil wohl auf

[1]) Ber. 1888, 411.

Verlust bei dem etwas umständlichen Isolierungsverfahren — es wurde das Verfahren von Stas-Otto in der von Marquis für Leber angegebenen Modifizierung benutzt — zurückzuführen, doch ist die Möglichkeit einer Einwirkung des Leberzellbreis auf das Morphin auch nicht ganz von der Hand zu weisen. Leider war es mir nicht möglich, die negativen Ergebnisse bezüglich des „gepaarten" und „umgewandelten" Morphins noch durch Tierversuche zu erhärten; trotzdem scheint es, vor allem, wenn man berücksichtigt, daß kein Autor nach Marquis das von diesem beschrieben „umgewandelte" Morpin deutlich wieder zu isolieren und zu beschreiben vermochte, daß es sich dabei wohl um ein mehr oder weniger verunreinigtes unverändertes, oder durch Oxydationsvorgänge verändertes Morphin oder ein Gemisch beider handelte. Auf die Wahrscheinlichkeit, daß es sich bei derartigen Produkten um Oxydimorphin handele, wiesen immer wieder verschiedene Autoren hin (Marmé, Puschmann, Lamal, Dorlencourt). Einen gewissen Anhalt, ein dem Marquis'schen „umgewandelten" Morphin ähnliches Produkt isoliert zu haben, glauben Totze und Kobert[1]) bei zwei Kaninchenversuchen gefunden zu haben, wo sie eine graugrüne Reaktion mit dem Formalin-Reagens erhielten; ein anderer gleichzeitiger Kaninchenversuch dagegen gab keinen Anhalt dafür. Die gleichen Autoren haben auch schon vergeblich versucht, aus Leberbrei und Morphin „umgewandeltes" Morphin zu gewinnen, auch sie fanden nur unverändertes Morphin (94,3 %) wieder.

Nachstehend sei auf die schon erwähnten neueren Arbeiten näher eingegangen, die an Hand eigener Versuche einer kritischen Bewertung zu unterziehen wünschenswert erschien.

Im Mai 1921 veröffentlichte C. Wachtel[2]) eine längere Arbeit über „Nachweis und Bestimmung des Morphins und

[1]) Chem. Ztg. 27, 1239, (1903.)
[2]) Biochem. Ztg. 120, 265, 1921.

anderer Alkaloide in tierischen Ausscheidungen und Organen". Nach einer eingehenden Ablehnung der bisher üblichen „Ausschüttelungs" Verfahren, die keine Gewähr für eine vollständige Isolierung und Reinigung des Morphins böten und teilweise, z. B. v. Kaufmann-Asser, mit 30% Fehler von vornherein rechneten, schlägt Wachtel einen eigenen Gang zur Isolierung und quantitativen Ermittelung des Morphins vor. Das Prinzip seiner Methode ist folgendes: Der mit Schwefelsäure schwach angesäuerte Harn bezw. der Auszug aus den zu untersuchenden Organen, der durch wiederholte Alkoholextraktion bei H_2SO_4 - saurer Reaktion, Abdestillieren des Alkohols und Aufnahme des Rückstandes mit Wasser gewonnen wird, wird mit Bleiessig (Liqu. Pb. subacet.) zur Reinigung gefällt, das Filtrat mit H_2S entbleit, und darauf bei schwach saurer Reaktion mit einer salzsäurefreien Phosphorwolframsäure das Morphin ausgefällt. Dieser Niederschlag wird gewaschen, in verdünnter Natronlauge gelöst und mit Seignettesalz zersetzt, wobei Wolframoxyde ausfallen, von denen abfiltriert wird. In dieser Lösung, welche außer phosphorsaurem Morphin nur noch Seignettesalz und weinsaures Natrium enthält, wird das Morphin mit Ferrizyankalium zu Oxydimorphin oxydiert. Durch jodometrische Bestimmung des zur Oxydation verbrauchten Ferrizyankaliums wird die Menge des vorhandenen Morphins ermittelt.

Gegen diese Methode erheben sich, was eigene Versuche bestätigten, eine Reihe von Bedenken. Zunächst muß das Ausfällen des Harns bezw. des Organauszuges mit Bleiessig durch den dabei entstehenden, sehr voluminösen Niederschlag einen weit erheblicheren Verlust an Morphin durch Adsorption an diesen Niederschlag mit sich bringen, als Wachtel selbst als Fehlerquelle der Methode gelten läßt. Gemäß der eingangs dieser Arbeit ausführlich besprochenen hohen Adsorbierbarkeit der Alkaloide muß gerade in solchen Fällen, wo es sich immer um sehr verdünnte Lösungen handelt, durch Adsorption an den Bleiessigniederschlag sich

ein ganz beträchtlicher Teil des Morphins der Bestimmung entziehen, ein Fehler, der besonders groß werden muß, wenn man, wie Wachtel zur Beschleunigung des Untersuchungsganges vorschlägt, von einem Abfiltrieren und Auswaschen des erwähnten Niederschlages absieht und die Bestimmung in einem aliquoten Teil der klar darüber stehenden Flüssigkeit vornimmt. Verarbeitung der Gesamtmenge aber, unter sorgfältigem Nachwaschen des Niederschlages mit viel Wasser, wie Wachtel vorschlägt, vermag nach dem bei den Adsorptionsversuchen Gesagten den Fehler nicht auszumerzen, eher schon ein Nachwaschen mit Alkohol, wobei durch Aenderung der Oberflächenspannungsverhältnisse das adsorbierte Alkaloid sicherlich wenigstens teilweise wieder in Lösung geht. Die zum Entbleien erforderliche Fällung mit H_2S muß den gleichen Nachteil wie die Bleiessigfällung, wenn auch in geringerem Umfange, nach sich ziehen, da ja derartige Sulfide bekanntlich besonders gute Adsorbentien sind.

Die dann im eingeengten Filtrat vorzunehmende Fällung des Morphins mit Phosphorwolframsäure und darauffolgende Zersetzung dieser Fällung erfordert wiederum nach der von Wachtel genau detaillierten Vorschrift beträchtlich lange Wartezeiten und verschiedene, erst durch längere Uebung zu erlangende Vorsicht, ohne dabei Gewähr für eine absolut quantitative Erfassung des Morphins zu bieten.

Auch gegen die Methode der quantitativen Bestimmung des Morphins durch Ueberführen in Oxydimorphin, das Hauptprinzip der Wachtel'schen Methode, lassen sich berechtigte Bedenken erheben. Die Oxydation des Morphins zu Oxydimorphin erfolgt, besonders bei alkalischer Reaktion, so leicht — evtl. schon durch den Sauerstoff der Luft —, daß das bei längerer Versuchsdauer schon das Resultat beeinflussen kann. Zudem ist es nach der Wachtel'schen Methode nicht absolut ausgeschlossen, daß Spuren von anderen, ebenfalls stark reduzierenden Substanzen als Verunreinigungen durch den Untersuchungsgang hindurch ins Titrationsgut gelangen und ebenfalls das Ergebnis verändern.

Hier wäre, besonders bei toxikologischen Untersuchungen, auch an Ptomaine zu denken.

Wachtel selbst gibt an, daß nach seiner Methode ein Fehler von 10—20% zu erwarten sei. Bei kleineren Mengen als 10 mg Morphin sei die Methode nicht mehr anwendbar, da dann Ueberwerte gefunden würden. Auch bei größeren Mengen (mehr als etwa 50 mg Morphin) erhöben sich Bedenken, weshalb Wachtel rät, in solchen Fällen nur einen aliquoten Teil des Harns zur Untersuchung heranzuziehen.

Bei einer praktischen Anwendung der Methode in einem Falle akuter Vergiftung (48 mg Morph. mur. per os), wo jeweils der Harn von 12 Stunden gesammelt und untersucht wurde, ergab erst die von der 24.—36. Stunde nach Einnahme gesammelte Harnmenge nur einen zweifelhaften qualitativen Nachweis von Morphin; obwohl das Filtrat, das das Morphin als phosphorsaures Salz enthielt, noch zur Reinigung bei saurer Reaktion ausgeäthert wurde, verblieb doch nach Isolierung des Morphins mit heißem Chloroform aus natriumbicarbonatalkalischer Lösung ein noch ziemlich unreiner Rückstand, der noch keine ganz einwandfreien Morphinreaktionen gab. Aehnlich ergebnislos verlief die Untersuchung einer Tagesmenge Harn eines Patienten, der schon längere Zeit 3 mal 0,015 bis 0,02 g Morph. mur. pro die subcutan erhalten hatte. (Vgl. Anhang, S. VI, Tab. 2, Vers. 1 u. 2).

Da Wachtel selbst bei Untersuchung von Organen die Reinigung mit Bleiessig nicht für ausreichend hält und in solchen Fällen noch außerdem nach Entbleiung durch H_2S eine Fällung mit $CuSO_4$ anzuschließen rät, wurde nach dem ungünstigen Ausfall der Harnuntersuchungen von einer Anwendung der Methode auf Untersuchung von Organen etc. Abstand genommen. Wachtel selbst gibt in den angeführten Versuchsprotokollen Mengen von nur 2,0—4,5 Milligramm als Resultate von Morphinbestimmungen nach seiner Methode an, während er anderseits selbst nur für Mengen

von 10—20 mg, höchstens bis 50 mg, die Methode für anwendbar (mit 10—20% Fehler!) hält. So müssen seine biologischen Auswertungen seiner Versuchsergebnisse wohl auch mit entsprechendem Vorbehalt aufgenommen werden, zum mindesten, soweit sie sich von Schlußfolgerungen anderer Autoren allzu weit entfernen.

Etwa drei Jahre nach der Veröffentlichung der oben besprochenen Arbeit von Wachtel erschienen kurz hintereinander drei Arbeiten von Takeo Takayanagi[1]), in denen dieser die Frage nach dem Schicksal des Morphins im Organismus erneut aufgreift. In der ersten der drei Veröffentlichungen teilt er die von ihm ausgearbeitete Methode zur Isolierung, Reinigung und quantitativen Bestimmung des Morphins in Körperflüssigkeiten und Organen mit. Das Prinzip seiner Methode ist folgendes: Der auf ein kleines Volumen bei schwach essigsaurer Reaktion eingeengte Harn oder der in der üblichen Weise — mehrmalige Extraktion mit Alkohol bei schwach saurer Reaktion, Abdunsten des Alkohols, Aufnahme des Rückstandes mit wenig HCl-haltigem Wasser, Ausschütteln mit Aether bei saurer Reaktion — gewonnene Organ- oder Kotauszug wird durch Zusatz von Sand in diesen aufgesogen, dann wird zur Entfernung der in Chloroform löslichen Verunreinigungen mehrmals bei saurer Reaktion mit Chloroform heiß ausgezogen, schließlich mit Natriumbicarbonat alkalisch gemacht und das freiwerdende Morphin durch mehrfaches Ausziehen mit heißem Chloroform extrahiert. Der Rückstand aus dem Chloroform wird dann mit $\frac{n}{10}$ Salzsäure aufgenommen, schließlich das Morphin zur quantitativen Bestimmung unter besonderen Bedingungen mit Phosphormolybdänsäure gefällt und der Niederschlag auf einem Goochtiegel gesammelt, getrocknet und gewogen.

In der Methode der Isolierung und Reinigung des Morphins ist also das Verfahren durch seine Einfachhheit und Kürze der Methode von Wachtel weit überlegen,

[1]) Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. 102, 167; 176; 183.

in der quantitativen Bestimmung des Morphins ergeben sich aber auch hier Schwierigkeiten. In einer Reihe von Versuchen wurde von mir zunächst das Isolierungs- und Reinigungsverfahren nachgeprüft (Anhang, Seite VI, Tab. 2, Vers. 3—4). So wurden z. B. 400 ccm normaler Harn mit 22,078 mg Morph. mur. versetzt und nach obiger Methode behandelt. Es verblieb aus dem Chloroform dabei ein so sauber aussehender Rückstand, daß er gleich mit 5 ccm $\frac{n}{10}$ HCl aufgenommen und titriert wurde; die Titration ergab 19,9 mg Morph. mur., = 90,4 % des zugesetzten Morphins; berücksichtigt man hierbei, daß beim Abdestillieren des Chloroform leicht durch teilweise Zersetzung des Chloroforms das darin gelöste Morphin evtl. zu einem kleinen Teile schon in das HCl-Salz übergeführt und so ein Unterwert bei der Titration entstanden sein kann, so muß dies Resultat durchaus als befriedigend, die Isolierungs- und Reinigungsmethode als zuverlässig bezeichnet werden. Dann wurde die Methode ebenfalls bei einem Patienten nach einmaliger Eingabe von 2 mal 0,03 g Morph. mur. per os (in 10 Stunden Abstand) erprobt: Es ergab schon der in den ersten 12 Stunden nach Einnahme der ersten Dosis gesammelte Harn einen sehr deutlichen qualitativen Nachweis von Morphin. Die Harnmenge der nächsten 48 Stunden gemeinsam untersucht ergab einen weit weniger deutlichen Nachweis, anscheinend wohl infolge von Verunreinigungen im letzten Chloroformrückstand. Der noch später gesammelte Harn gab dann keinerlei Anhalt mehr für die Anwesenheit von Morphin. Neben der Untersuchung des Harns wurde auch eine solche des Kotes des betreffenden Patienten nach obiger Methode vorgenommen. Die gesamte Menge des Kotes von zwei Tagen - die erste Abscheidung nach der Morphindarreichung erfolgte Infolge der eintretenden Verstopfung erst nach 30 Stunden — wurde gemeinsam untersucht, ließ aber trotz sorgfältigstem Arbeiten kein Morphin mehr isolieren.

Alsdann wurde in einer Reihe von Versuchen (Anhang Seite IX, Tab. 3) die Methode der quantitativen Bestimmung nachgeprüft. Gegen die Anwendung einer derartigen Fällung mit Phosphormolybdänsäure erhebt sich von vornherein das Bedenken, daß eine derartige Fällung in ihrer Zusammensetzung viel zu wechselnd und von den einzelnen Reaktionsbedingungen viel zu sehr, zum Teil in ganz unkontrollierbarer Weise, abhängig ist, als daß man eine gravimetrische Bestimmung dieser Fällung zur Grundlage einer Morphinbestimmung machen könnte. Takayanagi glaubt, durch zahlreiche Versuche empirisch festgestellt zu haben, daß der Morphin-Phosphormolybdat-Niederschlag bei Innehaltung der von ihm genau angegebenen Versuchsbedingungen eine ganz konstante Zusammensetzung besitze, derart, daß 1 g Morphin-Phosphor-Molybdat 0,566 g Morphinhydrochlorid (mit 3 H_2O Kristallw.) entspräche, der Morphin-Phosphor-Molybdatniederschlag also vermutlich die Zusammensetzung: $H_3PO_4 + 12\,MO_3 + 4\,C_{17}H_{19}NO_3$ haben müsse. Zur Nachprüfung dieser Angaben wurde in einer Reihe von Versuchen eine Morphinhydrochloridlösung von bekanntem Gehalt unter genauester Innehaltung der von Tak. gegebenen Vorschrift gefällt, wobei die Methode technisch noch dadurch verbessert wurde, daß statt des Goochtiegels Mikronutschen verwandt wurden, auf die der Niederschlag in der in der Mikroanalyse üblichen Weise übergesaugt wurde. Die Resultate zeigten, wie befürchtet, eine schlechte Uebereinstimmung. Bei genauem Innehalten der von Tak. angegebenen Wartezeit nach der Ausfällung ergaben sich Unterwerte (82 %, 96,7 %), im Filtrat schied sich nacher noch Niederschlag ab. Deshalb wurde die Wartezeit stufenweise verlängert, bis das Filtrat blank blieb. Dann ergaben sich starke Ueberwerte, die aber auch bei ganz gleichzeitigem und genau übereinstimmendem Ausfällen keine genügend genaue Uebereinstimmung der Resultate zeigten. Die charakteristischsten Ergebnisse zahlreicher Versuche sind in der Tab. 3, S. IX zusammengestellt. Sie zeigen, daß es nicht

möglich war, selbst bei der Ausfällung einer ganz reinen Morphinlösung, die Resultate innerhalb der von Tak. angegebenen Fehlergrenze von 5% zu bringen. — Zusammenfassend wäre zu dieser Arbeit Takayanagi's zu sagen, daß sie eine verhältnismäßig einfache und bei relativ geringem Zeit- und Materialaufwand sichere Methode zur Isolierung und Reinigung von Morphin in toxikologischen Untersuchungen vorschlägt, hinsichtlich der quantitativen Bestimmung aber keine ausreichende Genauigkeit erzielen läßt.

Einen unbedingt zuverlässigen Gang zum eindeutigen Nachweis von Morphin im Harn zu finden, ist aus zwei Gründen von größter Wichtigkeit: einmal, weil mit Sicherheit anzunehmen ist, daß bei jeder akuten Vergiftung mit Morphin ein — wenn auch nicht sehr großer — Teil durch den Harn ausgeschieden wird und so einer Untersuchung leicht zugänglich wird, dann aber auch, um durch einwandfrei positiven oder negativen Befund zur Klärung der alten Streitfrage beizutragen, ob bei chronischem Morphingebrauch der Körper wirklich die Fähigeeit erlangt, das Morphin zu zerstören, an irgend welche Zellbestandteile zu binden, zu adsorbieren, oder sonst in irgend einer Weise zu eliminieren oder nicht. Was das Auftreten von Morphin im Harn nach Morphingebrauch angeht, so muß nach den übereinstimmenden Ergebnissen zahlreicher neuerer Arbeiten (Dorlencourt, v. Kaufmann-Asser, v. Rijn, Valenti, Homberger u. Munch) bei der Fahndung nach Morphin in den Körperausscheidungen dem Harn *vor* den Faezes der Vorzug gegeben werden, entgegen der älteren, auf Tauber und Faust zurückgehenden Ansicht, daß die Ausscheidung in den Faezes die im Harn überwiege. Auch bei meinen Versuchen fand ich z. B. im Falle akuter Vergiftung in den Faezes *kein* Morphin, während es sich im Harn zur gleichen Zeit einwandfrei nachweisen ließ.

Ueber die Frage der „Morphingewöhnung" werden zur Zeit noch die verschiedensten und zum Teil widersprechende Ansichten verfochten, auf die näher einzugehen den Rahmen

dieser Arbeit weit überschreiten würde. Es sei hier nur auf die ausführliche Besprechung dieser Frage durch E. Sarkenstein in Heffters Handbuch der experimentelien Pharmakologie 1924, Bd. II/2 verwiesen. Die Frage, ob auch bei chronischem Gebrauch Morphin im Harn auftrete, wurde von den Autoren verschieden beantwortet, von den meisten verneint. Eine Klarstellung aber würde vor allem für den Kliniker von größter Bedeutung sein, da ihm, wenn sich das Morphin auch in solchen Fällen im Harn nachweisen läßt, damit ein bequemes und wertvolles Mittel zur Kontrolle der Morphinisten, die ja bekanntlich die größten Schwierigkeiten bereitet, an die Hand gegeben wäre. Die Veranlassung, diese Frage experimentell zu prüfen, gab eine Arbeit von Loofs [1]) „Ueber die Möglichkeit einer klinisch-chemischen Kontrolle des Morphinismus und Bemerkungen zur Theorie der Morphingewöhnung". Loofs kommt auf Grund einer Reihe von positiven Befunden zu der Ansicht, daß bei genügend sorgfältigem Arbeiten nach einem von ihm ausgearbeiteten Gang, der eine Modifizierung des bekannten Untersuchungsgangs von Spaeth darstellt, Morphin schon nach Tagesgaben von 15 — 20 mg im Harn einwandfrei nachzuweisen sei, ohne Rücksicht darauf, ob der Betreffende daran gewöhnt sei oder nicht. Um in der Reinigung besonders sicher zu gehen, hat er in einigen Versuchen noch ein Dialysieren des Harn-Auszuges eingeschaltet, (aber auch ohne dasselbe positive Resultate erzielt).

Bei der Nachprüfung des Loof'schen Verfahrens wurde zunächst von dem ursprünglich von Spaeth [2]) angegebenen Gang ohne Abänderungen ausgegangen. Es zeigte sich, daß danach z. B. in 500 ccm normalen Harn, dem 5 mg Morphinhydrochlorid zugesetzt waren, im letzten Rückstand das Morphin zwar noch keine sehr deutlichen, aber doch positiven Reaktionen gab, nach Reinigung durch Mikrosublimation auf der elektrischen Heizplatte (nach Kempf)

[1]) Ztshr. f. d. ges. Neur. u. Psychiatrie, Be. 79, 1922, S. 442
[2]) Spaeth, Untersuchung des Harnes. 1902.

aber ein kristallinisches Sublimat lieferte, das deutlich positive Reaktionen gab. Bei Anwendung des gleichen Gangs bei einer Reihe von Untersuchungen von Harn von Patienten, die schon längere Zeit Morphin. hydr. regelmäßig (2 mal 0,01 g subkutan bezw. 3 mal 0,01 g in suppos.) bekamen, blieb das Ergebnis negativ, ja sogar bei einem ausgesprochenen Morphinisten, der täglich sehr große Dosen (0,2 — 0,45 g!) Diacetylmorphin brauchte, war trotz besonders sorgfältiger Reinigung weder im Rückstand direkt noch nach Sublimation nach Kempf Morphin nachzuweisen, (Anhang, Seite VI Tab. 2 Nr. 5—9).

Da spätere Untersuchungen in Fällen chronischer wie akuter Morphinvergiftung nach dem Loof'schen Gang, der noch einige Verbesserungen in der Reinigungsmethodik erfuhr, ohne Ausnahme einwandfrei positive Ergebnisse brachten, liegt es nahe, anzunehmen, daß die Spaeth'sche Methode für ganz kleine Mengen, die sicher auch bei den erwähnten negativ ausgelaufenen Untersuchungen vorhanden waren, nicht ausreichte.

Schon einige Vorversuche, die an normalem Harn, dem Morphiumhydrochlorid zugesetzt war (10,0 bezw. 5,0 mg auf 500 ccm), vorgenommen wurden, zeigten die Ueberlegenheit der Loofs'schen Modifizierung gegenüber dem ursprünglichen Spaeth'schen Gang. Der Rückstand, der bei diesen Versuchen erhalten wurde, war, besonders nachdem die Reinigungsmethodik noch in der im Anhang, Seite XIII beschriebenen Weise verbessert wurde, nahezu farblos, gab sämtliche charakteristischen Reaktionen (Froehde, Marquis, Pellagri) in eindeutigster und schärfster Weise, viel besser, als der oben angeführte Vorversuch mit dem Spaeth'schen Gang. In einem Falle akuter Vergiftung (0,045 g Morphin. mur. in 2 Dosen von 0,02 + 0,025, mit $2^1/_2$ Stunden Abstand eingenommen) wurde dann der Harn nach diesem verbesserten Loofs'schen Gang untersucht. In der 1.—6. Stunde nach Einnahme zeigte sich kein Morphin im Harn, in der Harnmenge von der 6.—16. Stunde war deutlich Morphin nach-

zuweisen, in der 16.—30. Stunde war der Nachweis zwar noch positiv, aber schwächer; der dann noch weiter (30.—40. Stunde nach der ersten Einnahme) untersuchte Harn gab keinen Anhalt mehr für die Anwesenheit von Morphin. — Dann wurde auch ein Fall chronischer Vergiftung zur Prüfung der Methode und der Angaben Loofs' herangezogen, indem der Harn eines Morphinisten während der Entwöhnung mehrere Tage hintereinander in halben Tagesmengen untersucht wurde. Bei Beginn der Untersuchungen hatte der Patient seit etwa 10 Tagen 3 mal täglich 0,02 g Morph. mur. subkutan erhalten, am ersten Tage der Untersuchung wurde auf die Hälfte, 3 mal 0,01 g, am zweiten auf ein Drittel, 2 mal 0,01 g, am dritten Tage auf ein Sechstel: 1 mal 0,01 g zurückgegangen. Sämtliche Untersuchungen zeigten ein sehr deutlich positives Ergebnis; schon mit Teilen des Chloroformrückstandes traten die charakteristischen Reaktionen (Marquis, Froehde, Pellagri) mit Exaktheit ein. Bei der letzten Untersuchung war während der 24 Stunden (von Mittag zu Mittag), während deren der Harn gesammelt war, nur 0,01 g Morph. mur. abends verabreicht, trotzdem traten auch hier die Reaktionen mit aller Schärfe ein. Die Angaben Loofs' bezüglich der Möglichkeit der chemischen Nachprüfung eines Morphingebrauchs, sowohl nach einzelner wie nach chronischer Anwendung, werden also durch die oben angeführten Versuchsergebnisse in einwandfreier Weise bestätigt. Auch O. Wuth[1]) bestätigt an Hand einiger nicht sehr zahlreicher aber eindeutiger Versuche die Angaben Loofs', nähere Einzelheiten über den Verlauf der Untersuchung gibt er aber nicht an; seine Arbeit wendet sich in der Hauptsache mehr gegen die von Loofs aufgestellte Hypothese der Ursache der Morphingewöhnung, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann.

Der Ausfall der oben beschriebenen Versuche nach dem Spaeth'schen Gang in seiner ursprünglichen Fassung sowohl wie in der von mir noch verbesserten Loofs'schen

[1]) Münch. Med. Wochenschr. 72, 722, 1925.

Modifizierung desselben bestätigt mit aller Deutlichkeit, worauf schon immer Autoren von Ruf nachdrücklich hinwiesen (Kauzmann, Marmé, R. Schneider. E. Schmidt), daß bei Untersuchungen dieser Art der Erfolg sehr weitgehend abhängig ist sowohl von einem gut gewählten Isolierungsgang als auch besonders von der Geschicklichkeit, Sicherheit und Uebung des betreffenden Experten in der Ausführung toxikologischer Untersuchungen. So sind die großen Abweichungen in den Ergebnissen der in der Frage des Morphinnachweises veröffentlichten Arbeiten erklärlich, wenn z. B., um ein ganz krasses Beispiel anzuführen, Kauzmann[1]) mit Hilfe der Otto-Dragendorff'schen Methode noch nach Einnahme von nur 0,01 g das Morphin im Harn qualitativ nachzuweisen vermochte, J. D. Donath[2]) dagegen, der eine unbedingt ganz unzulängliche Methode anwandte, in einer Harnmenge von 1000 ccm 0,2 g zugesetztes Morphin als unterste Grenze der Erkennung bezeichnete! Bei den von mir ausgeführten Versuchen lagen sicherlich im Harn immer nur Bruchteile von Milligrammen oder doch nur ganz wenige Milligramme vor, doch gelang die Isolierung und Identifizierung mit einer Deutlichkeit, die nichts zu wünschen übrig ließ.

Zusammenfassend wäre also in der Frage nach dem Vorkommen und Nachweis von Morphin im Harn zu sagen, daß sowohl bei akuter wie chronischer Vergiftung mit Sicherheit mit dem Auftreten von unverändertem Morphin im Harn zu rechnen ist. Die auftretenden Mengen sind meist nicht sehr groß, für exakten quantitativen Nachweis wohl meist zu gering, aber eine mit großer Sorgfalt vorgenommene Untersuchung muß immer zu einem eindeutigen qualitativen Nachweis des Morphins mit Hilfe der üblichen Identitätsreaktionen (Marquis, Froehde, Pellagri) führen. Die beste Gewähr für einen sicheren Nachweis bietet der im Anhang, Seite XIII. ausführlich angegebene Gang, der sich,

[1]) Dissertation Dorpat 1868.

[2]) Arch. f. d. ges. Phys. (Pflüger) Bd. XXXVIII. 1889, 528.

mit verschiedenen Modifizierungen von Loofs und mir, dem Untersuchungsgang von Spaeth anlehnt. „Gepaartes“ oder „umgewandeltes“ Morphin konnte im Harn in keinem Falle nachgewiesen werden.

Quantitative Bestimmungsmethoden für Morphin.

a) mit Hilfe der Benzoylverbindungen des Morphins.

Wie schon oben erwähnt wurde, sind die meisten gebräuchlichen Isolierungs- und Bestimmungsmethoden für Morphin deshalb recht unzulänglich, weil es an einem wirklich bequemen organischen Lösungsmittel für Morphin fehlt. Entweder haben die sonst üblichen Lösungsmittel nur ein geringes Lösungsvermögen für Morphin (z. B. Aether), sodaß selbst mehrfache Ausschüttelungen damit es nicht annähernd quantitativ zu extrahieren vermögen, oder aber sie lösen zwar das Morphin leidlich gut, wie z. B. Amylalkohol, lösen aber im toxikologischen Untersuchungsgang gleichzeitig zu viel Verunreinigungen, z. B. Peptone und dergl., die dann leicht „Leichenmorphine“ vortäuschen.

Von der Ueberlegung ausgehend, daß das Morphin einer Benzoylierung verhältnismäßig leicht zugänglich sein müßte und daß die entstehenden Benzoylierungsprodukte in Aether hinreichend löslich sein dürften, wurden deshalb eine Reihe von Versuchen unternommen, auf dem Umwege über die Benzoylierung zu einer brauchbaren Morphinbestimmungs-Methode zu gelangen.

Benzoylderivate des Morphins wurden schon des öfteren hergestellt und beschrieben. So erstmalig von Beckett u. Wright[1]), die durch Erhitzen von entwässertem Morphin mit Benzoesäure bei 160° ein Monobenzoylmorphin, $C_{17}H_{18}(C_6H_5CO)NO_3$, und durch Erhitzen von Morphin mit Benzoesäureanhydrid bei 130° ein Dibenzoylmorphin, $C_{17}H_{17}(C_6H_5CO)_2NO_3$, erhielten. Beide Verbindungen bildeten noch Salze. Im Jahre 1880 glaubte Polstorff[2]) durch Erhitzen

[1]) Journ. chem. soc. 28, 23.

[2]) Ber. 13, 98, (1880).

von entwässertem Morphin mit dem doppelten Gewicht Benzoylchlorid im Druckrohr bei 100—110° ein Tribenzoylmorphin erhalten zu haben, woraus er den Schluß zog, daß im Morphin alle 3 Sauerstoffatome als Hydroxylgruppen vorliegen müßten. Aber noch im gleichen Jahre erbrachten Wright und Rennie[1]) den Beweis, daß unter diesen Bedingungen Dibenzoylmorphin entsteht, nicht aber ein Tribenzoylprodukt. Ihre Angaben wurden dann 1890 durch W. Danckwortt[2]) bestätigt, der unter den gleichen Bedingungen ebenfalls Dibenzoylmorphin in rein weißen Kristallen vom Schmelzpunkt 190° erhielt, wie auch Beckett, Wright und Rennie gefunden hatten. Danckwortt versuchte auch, durch Kochen des Dibenzoylmorphins mit Wasser zu einem Monobenzoylmorphin zu gelangen, ähnlich wie das beim Diacetylmorphin möglich ist, hatte aber keinen Erfolg. Im Jahre 1885 stellte G. Sonntag[3]) neben anderen Morphinderivaten auch Monobenzoylmorphin dar. Er benutzte dazu das von Schotten-Baumann eingeführte Verfahren, indem er Morphin mit Benzoylchlorid in etwa äquimolekularer Menge (auf 10 g Morphin 6 g Benzoylchlorid) unter langsamem Zusatz von Kalilauge im Mörser anrieb, und will dabei Monobenzoylmorphin in fast quantitativer Ausbeute in Form wohl ausgebildeter, glänzender, tetraedrischer, wasserfreier Kristalle vom F: 144—145° erhalten haben. Bei längerer Einwirkung des Benzoylchlorids hat er in geringer Menge Kristalle von anderer Kristallform und F: 198° erhalten, die er nicht sicher zu identifizieren vermochte. Wie aus den weiter unten beschriebenen Versuchen ersichtlich, handelte es sich dabei höchstwahrscheinlich um Dibenzoylmorphin, das vielleicht mit unverändertem Morphin verunreinigt war. Sonntag glaubte auf Grund seiner Versuche annehmen zu können, daß beim Benzoylieren des Morphins

[1]) Journ. of. chem. soc. 37, 610.
[2]) Arch. d. Pharm. 228, 581, (1890).
[3]) Dissertation Erlangen 1895.

auf kaltem Wege stets nur das Monobenzoylmorphin entstehe. Etwas später, 1896, wandte Vongerichten[1]) die Schotten-Baumann'sche Reaktion zur Darstellung von Benzoylderivaten des Morphins an. Er erhielt nach diesem Verfahren durch Einwirkung von Benzoylchlorid auf Morphin ein Benzoylierungsprodukt, das er nicht kristallin erhalten konnte und nur aus der Verseifungszahl, die er damit erhielt, als Monobenzoylmorphin identifizierte. Er glaubte, daß sein Produkt mit dem von Beckett und Wright aus Morphin und Benzoesäure gewonnen Monobenzoylmorphin identisch sei. Das Verfahren von Sonntag wurde von E. Merck[2]) nochmals angewandt. Er erhielt aber, wie er angibt, dabei nicht freies Benzoylmorphin, sondern das salzsaure Salz desselben in derben Kristallen vom F: 176—77°, das er dann durch Ausfällen der wässerigen Lösung mit Natriumcarbonat in das freie Monobenzoylmorphin überführte. Letzteres gewann er, aus verdünntem Alkohol umkristallisiert, in Form kleiner nadelförmiger Kristalle vom F: 145°. Merck stellte auch das Dibenzoylmorphin nach dem Verfahren von Wright u. Rennie und Danckwortt dar; er fand, daß dieses sich beim längeren Kochen mit Wasser zum größten Teil in Benzoesäure und freies Morphin zersetzte.

Seit dieser Arbeit von Merck fanden Benzoylderivate des Morphins in der Literatur keine Erwähnung mehr. Nach Untersuchungen von J. v. Mering[3]) soll sich Monobenzoylmorphin im Gegensatz zu den disubstituierten Verbindungen als allgemeines Beruhigungsmittel gut bewährt haben, in den Arzneischatz fand es aber keine Aufnahme.

Für die Benutzung zu einer für toxikologische Zwecke anwendbaren Benzoylierung schieden die Verfahren, die mit Erhitzen im Druckrohr bei höheren Temperaturen arbeiten, aus praktischen Gründen aus. Es galt also festzustellen, wie weit bei einem Verfahren auf kaltem Wege eine quantitative

[1]) Ann. 294, 206, (1896).
[2]) Arch. d. Pharm. 237, 216, (1899).
[3]) Merck, Jahresber. 1898, Januar.

Benzoylierung zu erreichen ist. Das von Sonntag und, in Anlehnung an dessen Arbeit, von Merck benutzte Verfahren erwies sich bei der Nachprüfung für ein quantitatives Arbeiten nicht anwendbar, da es schlechte Ausbeuten lieferte. Außerdem ist das Arbeiten mit Benzoylchlorid in offener Reibschale sehr unangenehm. Wie Sonntag selbst auch schon beobachtete, erhielt ich ebenfalls bei mehreren Benzoylierungen nach seiner Methode auch kein einheitliches Monobenzoylmorphin. Nur in einem Falle wurde in geringer Menge ein in fein-büscheligen Kristallnadeln kristallisierendes Produkt — neben uneinheitlichen gelbweißen Krusten erhalten, das durch Titration zur Bestimmung des Molekulargewichtes mit ziemlicher Genauigkeit (titriert: 387,8; Monobenzoylmorphin theoretisch: 389,1) als Monobenzoylmorphin identifiziert werden konnte. Der Schmelzpunkt lag aber nicht bei 145°, wie Sonntag angibt, sondern bei 136°.

In den weiteren Versuchen wurde dann in der Weise verfahren, daß jeweils 0,1 g Morphinhydrochlorid (5 ccm 2%ige Lösung) mit 1,0 g Benzoylchlorid und etwa dem gleichen Volumen Aether bei dauernd schwach alkalischer Reaktion im Scheidetrichter bezw. einer Arzneiflasche mit Gummistopfen geschüttelt wurde; sobald die alkalische Reaktion beim Schütteln in neutrale oder saure überging, wurde durch Zusatz von kleinen Mengen (0,5—1,0 ccm) 10%iger Natronlauge immer wieder alkalisch gemacht. Nachdem die alkalische Reaktion schließlich bestehen blieb, was nach allmählichem Zusatz von 5—6 ccm NaOH erreicht wurde, das überschüssige Benzoylchlorid also zersetzt war, und nachdem eine Probe der alkalischen Flüssigkeit nach dem Ansäuern und Abfiltrieren der Benzoesäure keine nennenswerte Fällung mtt Mayers Reagens mehr gab, wurde dann der Aether von der Mutterlauge getrennt, durch Schütteln mit destilliertem Wasser gereinigt und dann mit 5 ccm $\frac{n}{10}$ HCl das Benzoylmorphin in das salzsaure Salz übergeführt und die zu diesem Zweck nicht verbrauchte HCl

mit $\frac{n}{10}$ Borax zurücktitriert. In einer Reihe von 6 derartigen Versuchen konnten in dieser Weise durchschnittlich 90% der angewandten Morphinhydrochloridmenge nachgewiesen werden. Nähere Angabe über den Verlauf der Versuche im Anhang, Seite XI. Das Ergebnis beweist, daß der eingeschlagene Weg zur quantitativen Morphinbestimmung über die Benzoylierung durchaus gangbar und erfolgverheißend ist. Arbeiten doch alle sonst üblichen Bestimmungsmethoden für Morphin bisher mit teilweise noch größeren Fehlergrenzen, besonders, wenn es sich um die Bestimmung kleiner Mengen handelt.

Für die oben beschriebene Titration des Benzoylierungsproduktes blieb es gleichgültig, ob bei der Benzoylierung des Morphins ein einheitliches Benzoylierungsprodukt, also entweder nur Mono-, oder nur Dibenzoylmorphin entsteht; lediglich der Umstand, ob alles angewandte Morphin in ein ätherlösliches Benzoylmorphin übergeführt wird oder nicht, ist für das Resultat von Belang. Um aber nach Möglichkeit Klarheit darüber zu erhalten, welches Benzoylmorphin bei dieser Art der Benzoylierung entsteht, wurden einige Versuche in entsprechender Weise mit größeren Mengen ausgeführt und präparativ durchgeführt (Tabelle 4). Hierbei erwies sich zunächst, daß direkt aus dem Aether, der von der Mutterlauge getrennt und mit Wasser gereinigt war, ein reines, kristallines Produkt nicht zu erhalten war. Vermutlich störten noch die letzten im Aether verbliebenen Spuren von Verunreinigungen, die aus dem Benzoylchlorid stammten. Es wurde deshalb eine Reinigung über das HCl-Salz vorgenommen, indem das Benzoylierungsprodukt dem von der alkalischen Mutterlauge getrennten Aether durch Schütteln mit $\frac{n}{10}$ HCl entzogen und dann aus der salzsauren Lösung durch Alkali wieder abgeschieden und aufs neue ausgeäthert wurde. Aus dem Ergebnis mehrerer derartiger Versuche ergab sich, daß das Reaktionsprodukt ein wechselnd zusammengesetztes Gemisch von Mono- und

Dibenzoylmorphin darstellt. Bei vorsichtigem Einengen des Aethers gelang es, durch fraktionierte Kristallisation zuerst reines Dibenzoylmorphin zu erhalten, das durch Schmelzpunkt und Titration zur Ermittelung des Molekulargewichtes einwandfrei indentifiziert werden konnte. Der Schmelzpunkt erwies sich als etwas höher liegend (190—92°), als in der Literatur angegeben ist. (190°; Polstorff: 186°). Nach dem Dibenzoylmorphin kristallisierte immer ein zwar einwandfrei sauber aussehendes Produkt in feinen, büschelig angeordneten Nadeln aus, es gab dieses aber trotz verschiedenster Umkristallisierungs- und Reinigungsversuche keinen scharfen Schmelzpunkt (meist F: ~ 112—125°), Titrationen zur Ermittelung des Molekulargewichtes ergaben immer Zahlen, die zwischen dem Molekulargewicht des Monobenzoylmorphins (389,1) und dem des Dibenzoylmorphins (493,38) lagen, meistens um 425. Offenbar lag also ein Gemisch von Monobenzoylmorphin mit wechselnden Mengen Dibenzoylverbindung vor. Nur in einem Versuche (Tab. 4, Vers. 3) schieden sich neben den fein-büscheligen Nadeln, die als Gemisch anzusprechen waren, in ganz geringer Menge robuste, kantige Kristalle vom F: 145°, dem in der Literatur angegebenen Schmelzpunkt für Monobenzoylmorphin, ab; eine Identifizierung durch Titration zur Ermittelung des Molekulargewichtes ließ sich mit der geringen Menge nicht durchführen. (Sonntag beschreibt das von ihm gewonnene Monobenzoylmorphin als „schön ausgebildete, stark lichtbrechende, tetraedrische Kristalle"). Das rein erhaltene Dibenzoylmorphin enthielt kein Kristallwasser, während das sich nachher abscheidende Gemisch beim Trocknen über P_2O_5 im Vakuum bei erhöhter Temperatur noch einen deutlichen Gewichtsverlust zeigte. Daraus läßt sich schließen, daß das Monobenzolmorphin noch Kristallwasser enthalten muß, was in der Literatur bisher nicht angegeben war. Das salzsaure Salz beider Benzoylmorphine ist in Wasser in der Kälte relativ schwer löslich. Beim Aufnehmen der freien Base mit $\frac{n}{10}$ HCl entstand immer eine

leicht opalisierende Lösung, wie wenn der Körper zum Teil kolloidal gelöst sei, beim Erwärmen verschwand die Opaleszens vollständig, um beim Abkühlen wieder hervorzutreten.

Besonders beachtenswert ist an den geschilderten Versuchen, daß die Benzoylierung des Morphins, die zunächst wohl die phenolische OH-Gruppe des Morphins verestert, auch schon bei gewöhnlicher Temperatur bis zur Veresterung der alkoholischen OH-Gruppe fortschreitet; die Autoren, die bisher ein Dibenzoylmorphin herstellten, konnten nur durch Erhitzen im Druckrohr dies erreichen.

b) mit Hilfe von Pikrolonsäure:

Von L. Knorr [1]) wurde die Pikrolonsäure, das Dinitrophenylmethylpyrazolon, als Fällungsmittel in die Alkaloidchemie eingeführt, und auf seine Anregung hin dann von zahlreichen Autoren zur Charakterisierung von Basen benutzt. Besonders eingehend beschäftigten sich H. Matthes u. O. Rammstedt [2]) mit der Prüfung der Anwendungsmöglichkeiten der Pikrolonsäure für derartige Zwecke. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß die Pikrolonsäure sich nicht nur zum qualitativen Nachweis der Alkaloide trefflich eigne, sondern auch eine gegenüber anderen Methoden weit bequemere und schnellere, dabei aber genügend genaue quantitative Bestimmung gestatte. Ihre Versuche erstreckten sich in der ersten der beiden zitierten Arbeiten auf die quantitative Bestimmung von Brucin, Strychnin, Hydrastin u. Pilocarpin in Drogen und galenischen Präparaten mit Hilfe direkter Fällung in chloroform-ätherischer Lösung; in der zweiten Veröffentlichung mit der quantitativen Bestimmung von Styptizin, Styptizin-Tabletten, Codeinphosphatlösung, Codein-Verreibung mit Zucker, Morphinhydrochloridlösung und Morphinpulvern durch direkte Fällung in wässeriger Lösung.

[1]) Ber. 30. I. 917.

[2]) Arch. d. Pharm. 245, (1907), 112; Ztschr. f. analyt. Chem. 47, 565, (1907).

Die von ihnen gegebene relativ einfache Versuchsanordnung und -methodik sowohl wie auch die angegebenen damit erzielten Resultate ließen das Verfahren als eine vorzügliche Methode erscheinen, wenn nicht gegen eine Fällung mit Pikrolonsäure ähnliche Bedenken hinsichtlich der konstanten Zusammensetzung der Niederschläge, der Löslichkeit der Fällung in der jeweils benutzten Flüssigkeit usw. beständen, wie sie oben schon bei der Besprechung der Versuche mit Phosphormolybdänsäure erwähnt wurden. Aus dieser Ueberlegung heraus benutzten und empfahlen deshalb z. B. W. H. Warren u. R. S. Weiss[1]) die Pikronate zwar zur Reindarstellung von Alkaloiden, indem sie die Pikrolonate wieder zerlegten, benutzten sie aber nicht zu quantitativen Bestimmungen. In jüngster Zeit befaßte sich dann P. Herzig[2]) in einer längeren Besprechung über „Quantitative Bestimmung der Alkaloide" u. a. auch mit der Fällung mit Pikrolonsäure. Er fand bei der Nachprüfung z. B. der Gehaltsbestimmung vom Semen Strychni, Tinctura Strychni und Extr. Strychni verhältnismäßig hohe Unterwerte (6—7 %) gegenüber dem Arzneibuch-Verfahren und nach Fromme. Er beobachtete auch eine beträchtliche Löslichkeit des Pikrolonates. Erst in einer Konzentration von 2 % Brucin in Chloroformlösung trat eine Fällung durch Pikrolonsäure ein, bei niedrigerer Konzentration blieb sie, auch bei längerer Wartezeit, ganz aus!

Die Anwendbarkeit der Pikrolonsäurefällung für die Bestimmung von Morphin hat Herzig nicht nachgeprüft, es wurden deshalb von mir mehrere Reihen von Versuchen zu diesem Zweck angestellt. Matthes und Rammstedt gaben für die Bestimmung einen sehr einfachen Weg an, indem sie die betreffende Tablette oder Zucker-Anreibung in wenig Wasser lösen und in dieser Lösung das Alkaloid mit geringem Ueberschuß einer ca. $\frac{n}{10}$ alkoholischen Pikrolonsäure direkt fällen; nach etwa 15 Stunden Stehenlassen bei 10—15° wird

[1]) Journ. of biol. Chem. 3, 1907, 327.
[2]) Arch. d. Pharm. 258, (1920), 259.

der Niederschlag auf einen Goochtiegel gesammelt, eine halbe Stunde bei 110° getrocknet und gewogen; aus dem Gewicht des Pikrolonates wird alsdann die Menge des Alkaloides berechnet. Bei der Anwendnng der Fällung in einer Morphinhydrochloridlösung wollen Matthes und Rammstedt so durchschnittlich bis auf 4% Unterwert genaue Resultate erhalten haben, bei der Bestimmung in Zuckerverreibungen etc. 94—98% wiedergefunden haben. — Im Gegensatz zu diesen Angaben konnte ich in meinen Versuchen unter gleichen Bedingungen und gleicher Konzentration der Morphinlösung keine derartigen Resultate erhalten. Entgegen den Angaben von Matthes und Rammstedt schied sich eine Fällung teilweise garnicht, teilweise erst nach tagelangem Stehen ab. Schon äußerlich zeigten die Fällungen in gleich angelegten Versuchen erhebliche Unterschiede hinsichtlich Aussehen und Menge der Abscheidung. Auch durch Abkühlen im Eisschrank während der zur Abscheidung erforderlichen Wartezeit, wie Matthes und Rammstedt empfehlen, wurden die Resultate nicht verbessert. Die von einander sehr stark abweichenden Resultate dreier Versuchsreihen mit insgesamt 21 Versuchen sind im Anhang, Seite XII aufgeführt.

Eine quantitative Morphinbestimmung läßt sich demnach auf der Fällung mit Pikrolonsäure nicht aufbauen.

Diese Arbeit wurde in der Zeit vom Wintersemester 1923 24 bis Sommersemester 1926 im Pharmazeutisch-chemischen Institut der Universität Marburg ausgeführt.

Herrn Geh. Regierungsrat Professor Dr. J. Gadamer, dem ich die Anregung zu dieser Arbeit verdanke, sage ich für die mir bei der Ausführung der Arbeit in so reichem Maße gewährte Unterstützung und Anregung meinen besten Dank.

Anhang.

Tabelle 1.

Versuche über das Verhalten von Alkaloidsalzlösungen beim Durchsickern durch verschiedene hohe Schichten Erde.

1.	2.			3.	4.	5.							
						Untersuchung der Erde nach Aufhören des Durchsickerns: (Jede Erdmenge a) mit säurehalt. Wasser ausgeschüttelt und b) nach Stas-Otto untersucht.							
	Erdschicht:					Oberstes Viertel der Erdschicht		Zweitoberst. Viertel		Zweitunterst. Viertel		Unterstes Viertel	
Lfde. Nr.	Höhe cm:	P_H:	sterilisiert?	Aufgefüllt:	Untersuchung des Durchgesickerten:	nach a)	nach b)	nach a)	nach b)	nach a)	nach b)	nach a)	nach b)
1.	10	7,5-7,8	nicht steril.	10 cc 0,5%ige Stry. nitr. Lösg. danach: 10 cc dest. Wasser	Erste 5 cc: +(schwach!) dann negativ	+	+	+	—	—	—	—	—
2.	10	7,5-7,8	steril.	10 cc 0,5%ige Stry. nitr. Lösg. danach: 10 cc dest. Wasser	negativ	+	(?)	—	+!	—	—	—	—
3.	10	7,5-7,8	steril.	10 cc 0,5%ige Morphinhydrochloridlg. danach: 10 cc dest. Wasser	negativ	+	+	+(?)	—	—	—	—	—
4.	10	7,5-7,8	nicht steril.	10 cc 0,5%ige Morphinhydrochloridlg. danach: 10 cc dest. Wasser	negativ	+	+	—	—	—	—	—	—
5.	10	7,5-7,8	nicht steril.	10 cc 0,5%ige Stry. nitr. Lösg. danach: 10 cc dest. Wasser	negativ	+	+	—	+!	—	—	—	—
6.	5	7,5-7,8	nicht steril.	10 cc 0,5%ige Stry. nitr. Lösg. danach: 10 cc dest. Wasser	Kein Strychnin nachweisbar	—							
7.	5	7,5-7,8	nicht steril.	10 cc 0,5%ige Stry. nitr. Lösg. danach: 10 cc dest. Wasser	Kein Strychnin nachweisbar	—							

Fortsetzung von vor. Seite:

2. Erdschicht: Höhe cm:	P_H:	sterilisiert?	3. Aufgefüllt:	4. Untersuchung des Durchgesickerten:	5. Untersuchung der Erde nach Aufhören des Durchsickerns: (Jede Erdmenge a) mit säurehalt. Wasser ausgeschüttelt und b) nach Stas-Otto untersucht.) Oberstes Viertel der Erdschicht: nach a) / nach b)	Zweitoberst. Viertel: nach a) / nach b)	Zweitunterst. Viertel: nach a) / nach b)	Unterstes Viertel: nach a) / nach b)
2,5	7,5-7,8	nicht steril.	10 cc 0,5%ige Stry. nitr. Lösg. panach: 10 cc dest. Wasser	Kein Strychnin nachweisbar	—	—	—	—
5 cm = 5,0 g	4,5	nicht steril.	10 cc 0,8%ige Stry. nitr. Lösg. danach: 10 cc dest. + 5 cc dest. Wasser	Strychnin **dauernd positiv**	—	—	—	—
10 cm = 10,0 g	4,5	nicht steril.	15 cc 0,8%ige Stry. nitr. Lösg. danach: **weitere 15 cc der gleichen Lsg.**	5,6% des ursprünglichen Stry.-nitr.-Gehaltes gef.	—	—	—	—
10 cm = 10,0 g	4,5	nicht steril.	wie bei vorig. Versuch	Im Durchgesickerten **praktisch kein Stry. mehr**; Erdschicht anscheinend fester geklopft als bei 10; Durchlaufzeit war länger.	—	—	—	+ (Also genügte die 10 cm hohe, fester geklopfte Schicht **eben**, um die 30 cc 0,8%ige Stry. nitr. Lösung = 240 mgr Stry. nitr. (!) praktisch quantitativ zu adsorbieren!)
10	4,5	steril.	Nach u. nach 30 cc 0,5%ige Stry. nitr. Lösung	In den ersten 5 cc noch 2,613 mgr. Stry. nitr. nachweisbar; dann negativ	30,7 mgr	2,6 mgr	28,6 mgr	21 mgr — + — — (Insgesamt quant. wiederbestimmt: **82,9 mgr Strychninnitrat = 55,3%** der angew. Menge.)
10	4,5	nicht steril.	Nach u. nach 30 cc 0,5%ige Stry. nitr Lösung	negativ	40,96 mgr	2,0 mgr	10,03 mgr	36,15 mgr + + — — (Insges. quant. wiederbestimmt: **89,14 mgr Stry. nitr. = 59,2%** der angew. Menge.)

Fortsetzung von vor. Seite:

1.	2.			3.	4.	5.
Lfde. Nr.	Erdschicht: Höhe cm:	P_H:	sterilisiert?	Aufgefüllt:	Untersuchung des Durchgesickerten:	Untersuchung der Erde nach A hören des Durchsickerns: (Jede Erdmenge a) mit säur halt. Wasser ausgeschüttelt u b) nach Stas-Otto untersuch
						Oberstes Viertel der Erdschicht: nach a) / nach b) — Zweitoberst. Viertel: nach a) / nach b) — Zweitunterst. Viertel: nach a) / nach b) — Unterstes: nach a)
14.	10	4,5	**nicht** steril.	10 cc ausgekocht. dest. Wasser danach: nach u. nach **30 cc 0,5%ige Stry. nitr. Lösung**	negativ	27,2 mgr / 9,3 mgr / 16,15 mgr / 39,7 mgr + + — (Insges. quant. wiederbestim **92,35 mgr Stry. nitr.** = 61,3 der angew. Menge.)
15.	10	4,5	steril.	wie beim vorig. Versuch	negativ	35,7 mgr / 12,2 mgr / 12,5 mgr / 18,9 mgr + + — (Insges. quant. wiederbestimm **79,3 mgr Stry. nitr.** = 52,7% der angew. Menge.)
Zeichen						
115 a	10	4,5	**nicht** steril.	**30 cc 0,5%ige Morphinhydrochlorid-Lösung**	Morphin blieb **dauernd positiv**	(Vergl. hierzu Verss. 12 u. 1
115 b	10	4,5	„	wie beim vorig. Versuch	„	„ „ „ „
115 c	15	4,5	„	wie beim vorig. Versuch	Morphin **dauernd negativ**	——— ———

113. Versuche zur Ermittelung der Einstellung eines Gleichgewichtes bei der Adsorption an Bodenerde.

Jeweils 30 cc 0,5%iger (genau: 0,512%) Strychninnitrat-Lösung mit je 10,0 g Erde (P_H: 4,5) verschieden lange Zeit geschüttelt und in jeweils 10 cc des Filtrates den Gehalt an Stry. nitr. bestimmt:

		Wiedergefunden:			Wiedergefunden:
1.	4 Min. lang geschüttelt;	9,93 mg	7.	30 Min. lang geschüttelt;	7,06 mg
2.	5 „ „ „	10,5 „	8.	40 „ „ „	6,27 „
3.	7 „ „ „	9,93 „	9.	50 „ „ „	6,75 „
4.	10 „ „ „	7,55 „	10.	60 „ „ „	6,36 „
5.	15 „ „ „	7,15 „	11.	80 „ „ „	6,75 „
6.	20 „ „ „	7,34 „	12.	120 „ „ „	6,84 „

Anmerkung: In den Verss. 4–12 betrug demnach die Adsorption im Mittel 86,5% des angewandten Strychninnitrats; von 10,0 g Erde wurden durchschnittlich ∼ 140 mg. Strychninnitr. adsorbiert.

116. Adsorptionsversuche mit Mischungen von verschiedener Bodenerde.

Nr.	Benutzte Erdmischung: Zusammensetzung:	P_H:	Aufgefüllt:	Untersuchung des Durchgesickerten: Stry-Gehalt:	P_H:	Bem.:
16/1	Erde C (P_H : 4,5) unvermischt: 5 cm = 5,0 g	4,5	20 cc 0,5%ige Stry. nitr. Lsg. (P_H: 5,15)	Stry. blieb dauernd positiv	∼ 4,3 (nach Filtrieren)	
16/2	Mischung 1 + 1 aus saur (P_H : 4,5) u. alkal. (P_H: 7,75) Erde; 5 cm = ∼ 7,0 g	5,4	„	Stry. blieb dauernd negativ	5,4	Die Erde (P_H : 7,75) war spez. viel schwerer und feinkörniger als d. Erde (P_H : 4,5), deshalb 5 cm hohe Schicht = 7,0 g; die Fl. sickerte langsamer durch als bei 116/1.
16/3	Mischung 2 + 1 aus saur. (P_H: 4,5) und alkal. (P_H: 7,75) Erde; 5 cm = ∼ 6,0 g	5,15	„	Stry. blieb dauernd negativ	4,6	

117. Adsorption in Lösungen verschiedener Konzentration.

(Benutzte Erde: P_H: 4,5.)

Nr.	Erdschicht: Rohrweite mm	Erdschicht: Erde:	Aufgefüllt:	In jeweils 10 cc des gesamten Durchgesickerten den Stry-Gehalt bestimmt; gefunden:	Demnach adsorbiert:
117/1	18	5,0 g Erde P_H: 4,5	20 cc 0,5%ige Stry. nitr.-Lsg.	19,86 mg Stry. nitr. = 37,7% der angew. Menge	60%
117/2	14	3,0 g Erde P_H: 4,5	20 cc 0,3%ige Stry. nitr.-Lsg.	5,96 mg Stry. nitr. = 20% der angew. Menge	80%
117/3	11,4	2,0 g Erde P_H: 4,5	20 cc 0,2%ige Stry. nitr.-Lsg.	1,788 mg Stry. nitr. = ~ 10% der angew. Menge	~ 90%

120.

Jeweils 10 cc 0,5%ige Stry. nitr.-Lösg. + 10 cc dest. Wasser mit 5,0 g Erde (P_H : 4,5) geschüttelt (1 Std. lang); dann das Strychnin in Filtrat und Erde nachgewiesen:

Nr.	Im abfiltrierten Wasser noch wiedergefunden:	Wie in den Verss. Tab. 1; Sp. 5 a) Erde mit säurehalt. Wasser geschüttelt; gefunden:	Wie in den Verss. Tab. 1; Sp. 5 b) Dieselbe Erde nach Stas-Otto untersucht; gefunden:	Erde mit Na_2CO_3-Lösung durchtränkt, mit $CHCl_3$ wiederholt extrahiert; gefunden:	Adsorbiert waren insgesamt mg:	Davon wiedergefunden also:
1.	5,76 mg	5,36 mg	16,28 mg	—	44,24	21,64 mg = 48,9%
2.	6,75 mg	7,15 mg	18,17 mg	—	43,25	25,32 mg = 58,5%
3.	5,96 mg	—	—	38,5 mg	44,0	38,5 mg = 87,5%
4.	6,95 mg	—	—	39,33 mg	43,05	39,33 mg = 91,4%
5.	6,35 mg	—	—	36,15 mg	43,65	36,15 mg = 82,82%

Tabelle 2.

Versuche über den Nachweis von Morphin in Körperausscheidungen (Harn und Faezes).

Nr.	Untersuchungsmaterial:	Untersuchungsgang:	Ergebnis: Mayers R.	Marquis	Froehde	Pellagri	Morphin-Nachweis:	Bemerkungen:
1.	Harn **nach einmaliger Einnahme** von 0,048 g Morph. mur. (1.-36. Stunde nach Einnahme gesammelt und untersucht)	Wachtel	+	+?	−		nicht einwandfrei positiv	Mit Mayers Reag. u. Jodjodkalium positive aber schwache Reaktionen.
2.	Harn **nach länger. Morphingebrauch** (3 × 0,015—0,02 subkut. pro die); Tagesmenge (800 cc)	desgl.	(+)	−	−		negativ	
3.	400 cc normalen Harn, mit 22,078 mg Morph. mur. versetzt	Takayanagi	+	+	+		90,4% quant. wiedergefunden	Rückstand aus $CHCl_3$, da sehr rein, gleich mit $^n/_{10}$ HCl aufgenommen und titriert.
4.	Harn nach einmaliger Einnahme von 2 × 0,03 Morph. mur. (mit 10 Stunden Abstand eingenommen).	desgl.						
	a) Harnmenge der 1.—12. Stunde nach der ersten Einnahme	„	+	+	+		deutlich positiv	
	b) desgl. 12.—60. Stunde	„	+	+?	+?		nicht einwandfrei positiv	Farbreaktionen anscheinend durch Verunreinigungen verdeckt.
	c) desgl. 60.—84. Stunde	„	−	−	−		negativ	
	d) die gesamten Faezes von der 1.—48. Stunde nach Einnahme untersucht; (Menge gering; Verstopfung! erste Menge nach 30 Stunden.)	„	+	+?	−		nicht einwandfrei positiv	Ausfall der Farbreaktionen noch undeutlicher als bei b).
5.	500 cc normal. Harn mit 0,005 g Morph. mur. versetzt.	Spaeth	+	+	+		deutlich positiv	Rückstand noch durch Mikrosublimat. nach Kempf gereinigt; Farbreaktionen d. n. deutlicher

Fortsetzung von Tabelle 2.

Nr.	Untersuchungsmaterial:	Untersuchungsgang:	Ergebnis: Mayers R.	Marquis	Froehde	Pellagri	Morphin-Nachweis:	Bemerkungen:
6.	Harn nach längerem Morphingebrauch (2 × 0,01 subkutan pro die); Tagesmenge (2000 cc!)	Spaeth	+	–	+		sehr zweifelhaft positiv	Wohl auf starke Verunreinigung. zurückzuführen
7.	Harn nach längerem Morphingebrauch (3 × 0,01 pro die, in supposit.); 2 Tagesmengen vereinigt, da Menge s. gering: zus. 850 cc!	desgl.	+	–	–		negativ	Mit Mayers R. ausgefällt; Niederschl. wieder zerlegt, Morphin darin nicht nachweisbar
8.	Desgleichen; wieder 2 Tagesmengen vereinigt (zus. 750 cc!)	desgl.	–	–	–		negativ	
9.	Harn von Morphinisten, der tägl. 0,2—0,45 g Diacetylmorphin einnahm							
	a) 1 Tagesmenge (1,5 l)	desgl.	+	–	–		negativ	Mit Mayers R. ausgefällt, Niederschlag wieder zerlegt, Morphin darin nicht nachweisbar; Mikrosublimation ebenfalls erfolglos.
	b) 2 Tagesmengen vereinigt (2,9 l)	desgl.	+	–	–		negativ	Auch Reinigg. durch Mikrosublimation erfolglos.
	c) 1 Tagesmenge (1,3 l)	desgl.	+	–	–		negativ	
10.	500 cc normal, Harn mit 0,01 g Morph. mur. versetzt	Loofs	+	+	+	+	positiv	Rückstand noch etwas gelb gefärbt
11.	500 cc normal. Harn mit 0,005 g Morph. mur. versetzt	desgl., in modifizt. Form	+	+	+	+	positiv	Rückstand fast farblos
12.	Harn nach einmaliger Einnahme von 45 mg Morph. mur. (20 + 25 mg, in 2½ Std. Abstand)							

Fortsetzung von Tabelle 2.

Nr.	Untersuchungsmaterial:	Untersuchungsgang:	Ergebnis: Mayers R.	Marquis	Froehde	Pellagri	Morphin-Nachweis:	Bemerkungen:
	a) Menge der 1. - 6. Stunde nach der erst. Einnahme	desgl., in modifizt. Form	+?	—	—	—	negativ	
	b) desgl., 6.—16. Stunde nach der erst. Einnahme	„	+	+	+	+(?)	positiv	
	c) desgl., 16.—30. Stunde nach der erst. Einnahme	„	+	+	+?	—	positiv (schwach)	
	d) desgl., 30.—40. Stunde nach der erst. Einnahme	„	—	—	—	—	negativ	
3.	Harn eines Morphinisten (während der Entwöhnung; Morphingaben siehe unten)							
	Tagesmenge I, in 2 Hälften getrennt untersucht*)	„	+	+	+	+	beidemale positiv	*) einmal unter Weglassen der zur Zerlegung v. etwa vorhandenem „gepaarten" Morphin vorgesehen. Behandlung mit H_2SO_4, einmal mit derselben.
	Tagesmenge II, ebenfalls in 2 Hälften untersucht*)	„	+	+	+	+	beidemale positiv	
	Tagesmenge III, ebenfalls in 2 Hälften untersucht*)	„	+	+	+	—	beidemale positiv	

Morphingaben vor und während der Untersuchung des Harnes (Vers. 13.)

Harn jeweils von Mittag zu Mittag gesammelt u. untersucht

I. Tagesmenge	Seit ca. 8 Tagen:	$3 \times 0{,}02 = 0{,}06$ g	Mo. mur. pro die
	Am 17. Februar:	$3 \times 0{,}02 = 0{,}06$ g	„ „ „ „
	„ 18. „	$3 \times 0{,}02 = 0{,}06$ g	„ „ „ „
	„ 19. „	$3 \times 0{,}02 = 0{,}06$ g	„ „ „ „
II. „	„ 20. „	$3 \times 0{,}01 = 0{,}03$ g	„ „ „ „
III. „	„ 21. „	$2 \times 0{,}01 = 0{,}02$ g	(morg. u. abds.)
	„ 22. „	$1 \times 0{,}01 = 0{,}01$ g	(abends)

Tabelle 3.

Versuche zur Nachprüfung der von Takayanagi vorgeschlagenen **quantitativen Morphinbestimmungsmethode.**

Nr.	Angewandt Morph. hydr. mg:	Wiedergefunden: Morph.-P-Molyb.-dat mg:	nach Takayan. = Morph. hydr. mg:	Also wiedergefunden %:	Bemerkungen:
I	22,078	32,0	18,1	82%	
IIa	22,078	37,7	21,34	96,7%	bei IIb wurde nach d. Ausfällen ½ Stde. länger stehen gelassen, als Vorschrift angab (weil sich bei I u. IIa beim länger. Stehen noch Niederschlag abschied).
IIb	22,078	38,9	22,02	100%	
IIIa	22,078	47,8	27,03	122,4%	Nach d. Ausfällen 15 Std. stehen gelassen; jetzt blieb das Filtra blank.
IIIb	22,078	48,0	27,15	123%	
IVa	22,068	45,3	25,62	116%	Nach d. Ausfällen 1 Std. stehen gelassen; trotzdem Ueberwerte!
IVb	22,078	44,3	25,06	113,5%	

Nach Takayanagi (empir. festgestellt):

0,566 g Morph. hydrochl. = 1,0 g Morph.-P-Molybdat.
22,078 mg „ „ = 39,007 mg „ „ „

Tabelle 4. Benzoylierung von Morphin.

Nr.	Verfahren nach:	Angewandte Mengen: Morph. hydr. g	Benzoylchlorid g	Na OH (nach und nach zugesetzt)	Ergebnis:
1.	Sonntag	2,0	2,0	ca. 12 cc (10%)	Zuerst plastische, fensterkittartige Masse; aus Aether b. langs. Abdunsten: a) geringe Menge nadelförmiger dichtbüscheliger Kristalle; F: 136°, vorher bei ca. 97—100° Schrumpfen; Titration: Mol. Gew.: 387,8 (Monobenzoylmorphin theoret.: 389,1) b) gelbliche Krusten, daraus kein reines Produkt isolierbar.
2.	Sonntag	1,0	1,0	ca. 7 cc (10%)	Zuerst krustige Masse; aus Aether als einziges sauber aussehendes Produkt dann weiße Kristallnadeln; F: 136-8° unscharf; Titration: Mol.-Gew.: 467,2

Fortsetzung von Tabelle 4.

Nr.	Verfahren nach:	Angewandte Mengen: Morph. hydr. g	Benzoylchlorid g	Na OH (nach und nach zugesetzt)	Ergebnis:
3.	eigenes (Schütteln im Scheidetrichter)	0,3	3,0	19 cc (10%)	Aus d. Aether b. langsam. Abdunsten: a) sehr geringe Menge robuste, kantige Krist.; F: 145° (Monobenzoylmorphin?) b) feinbüschelige Nadeln; F: ganz unscharf 122—133°, vorher b. ca. 100° Schrumpfen; Titration: Mol.-Gew.: 332,0 (ganz unbrauchbare Zahl.)
4.	„	1,0	5,0	31 cc (10%)	einziges sauber erhaltenes Produkt — neben beträchtl. Menge gelb-öligen, nicht kristallin. Rückstand — aus Aether: weiße, büschelige Nadeln; F: ab ca. 97° Schrumpfen, bei 133-7° blasig geschmolzen; Titration: Mol.-Gew. 444,2 (also offenbar Gemisch).
5.	„	2,0	10,0	25 cc (20%)	über HCl-Salz gereinigt verblieb aus d. Aether bei vorsicht. Einengen nacheinander: a) schneeweiße, büschelige Kristallnadeln; F: ~ 147°, vorher b. ca. 97° Schrumpfen; Titration: Mol.-Gew.: 426,03 (Gemisch?) b) weiße Krusten; mit desgl. des folgend. Versuchs aufgearbeitet.
I.	„	4,0	20,0	50 cc (20%)	über HCl-Salz gereinigt verblieb aus dem Aether b. ganz vorsichtigem Einengen nacheinander: 1) beträchtliche Menge feindrusiger, weißer Kristalle, F: 190-2°; Titration: Mol.-Gew.: 503,2 (offenbar Verunreinigungen noch störend), nach d. Wiedergewinnen Titration: Mol.-Gew.: 492,9; also Dibenzoylmorphin (theor.: 493,38). 2) nochmals geringere Menge Dibenzoylmorphin; F: 192°. 3) weiße, büschelige Kristallnadeln, die nach d. Absaugen seidig-filzige Masse darstellten; F: unscharf ~ 122—26, vorher b. ca. 100° Schrumpfen; Titration: Mol.-Gew.: 429,26 (also offenb. Gemisch). 4) weiße Krusten.
I.		—	10,0	25 cc (20%)	Da Mutterlauge noch starken Morphingehalt zeigte, diese nochmals mit Benzoylchlorid behandelt; Verlauf wie bei I; Aus d. Aether verblieb: 1) Dibenzoylmorphin, F: 192° 2) feinbüschelige Kristallnadeln wie bei I/3; F: 114—118° unscharf; Titration: Mol.-Gew.: 454,1 (offenbar Gemisch) 3) weiße Krusten in geringer Menge.

Tabelle 5.

Quantitative Morphin-Bestimmung mit Hilfe der Benzoylierung des Morphins.

Nr.	Angewandte Mengen: Morph.-hydrochlorid: g	Benzoylchlorid: g	NaOH (10%) nach und nach zugesetzt:	Wiedergefunden: gebd. $\frac{n}{10}$ HCl: cc	= Morphinhydrochlorid	= %:	Bemerkungen:
1.	0,100	1,0	6 cc	2,08	0,0781	78,1%	
2.	0,100	1,0	5 cc	2,46	0,0924	92,4%	durchschnittlich 90% (89,9) wiedergefunden.
3.	0,100	1,0	5 cc	2,34	0,08787	87,9%	
4.	0,100	1,0	6 cc	2,44	0,0916	91,6%	
5.	0,100	1,0	6,5 cc	2,31	0,0867	87%	
6.	0,100	0,5	3,0 cc	2,41	0,0905	91%	
7.	0,100	1,0	5,0 cc	2,63	0,09876	98,8%	

Tabelle 6.

Morphin-Bestimmungen mit Pikrolonsäure in einer Morphinhydrochloridlösung von bekanntem Gehalt:

Nr.	Angewandt Morphinhydrochl mg	Gefunden: Morphin-Pikrolonat: mg	= Morphinhydrochlor.: mg	Also wiedergefunden %:	Bemerkungen:
1.	8,0	11,4	7,8	97,5%	
2.	8,0	10,2	7,0	87,5%	
3.	8,0	13,6	9,34	Ueberwert	
4.	8,0	4,8*)	3,29	41,1%	*) Niederschlag schied sich erst nach 4 Tagen ab.
5.	8,0	0,1	0,0686	Unterwert	
6.	8,0	0,15	0,103	„	
7.	10,81	—	—	0%	zeigten nur schwache Opaleszenz, keine Fällung.
8.	10,81	—	—	0%	
9.	10,81	—	—	0%	
10.	10,81	—	—	0%	
11.	10,81	—	—	0%	
12.	10,81	13,1	8,99	83,2%	Nach 15stünd. Stehen abgeschieden
13.	10,81	12,6	8,657	80,3%	
14.	10,81	10,7	7,35	68,0%	
15.	10,81	8,8	6,046	56%	

Das Pikrolonsäureverfahren angewandt zur Bestg. des Morphingehaltes einer mit Bolus geschüttelten (Adsorptionsversuche) Morphinhydrochlorid-Lösung; Resultate:

Nr.	Ursprünglicher Gehalt an Morphin hydr. vor d. Schütteln mit Bolus, pro 10 cc	Gefunden: Morphin-Pikrolonat	= Morphindydrochlor.	Demnach wären durch Bolus adsorbiert:	Bemerkungen:
1.	8,0 mg	11,6 mg	7,9 mg	0,1 mg (?)	Keine hinreichend gut übereinstimmenden Werte, um über den Grad der AdsorptionSicheres aussagen zu können!
2.	8,0 „	—	—	—	
3.	8,0 „	4,9 „	3,36 „	4,64 mg = 58%	
4.	8,0 „	6,0 „	4,12 „	3,88 mg = 48,5%	
5.	8,0 „	6,2 „	4,25 „	3,75 mg = 47%	
6.	8,0 „	7,0 „	4,8 „	3,2 mg = 40%	

Arbeitsgang zum Nachweis von Morphin im Harn.

1) Eindampfen des Harns bei schwach H_2SO_4-saurer Reaktion bis zur Trockne;
2) Trockenrückstand 2 mal mit je ca. 75 ccm absolutem Alkohol übergießen, mit Pistill und Spatel gut durchgearbeitet, nach einigen Minuten Stehen auf Nutsche absaugen die vereinigten Alhoholauszüge auf mäßig heißem Wasserbad zur Sirupdicke einengen; (Alkohol quantitativ verjagen!);
3) Aufnahme dieses Sirups mit ca. 20 ccm destilliertem Wasser; auf saure Reaktion prüfen, evtl. 1 — 2 ccm $\frac{n}{1}$ HCl zusetzen;
4) Die saure wässer. Flüssigkeit nacheinander mit Chloroform, gleichen Teilen Chloroform u. Aether und dann noch mit Aether zur Reinigung ausschütteln; Aether-Ausschüttelung evtl. wiederholen, bis der Aether farblos bleibt;
5) wässer. Extrakt bei sauerer Reaktion mit Amylalhohol heiß ausschütteln, gut absitzen lassen; wässer. Extrakt in Meßzylinder auffangen;
6) mit einer Probe (1 ccm) der saueren wässer. Flüssigkeit deren Säurewert gegen $\frac{n}{1}$ NaOH durch Titrieren (Phenolphtalein) ermitteln, darauf Hauptmenge mit laut Titration erforderlicher Menge $\frac{n}{1}$ NaOH genau neutralisieren, dann 2 ccm konz. Natriumbicarbonatlösung zugeben;
7) $NaHCO_3$-alkal. Flüssigkeit sofort mit heißem Amylalkohol ausschütteln; nach dem Absitzen der beiden Flüssigkeiten den Amylalkohol (mit dem Morphin) durch Na_2SO_4 sicc. filtrieren zur Entfernung der letzten Spuren der alkal. Flüssigkeit; alsdann den Amylalkohol einmal mit $NaHCO_3$-alkalischem Wasser, dann einmal mit destilliertem Wasser ausschütteln;

8) Herausschütteln des Morphins aus dem Amylalkohol mit 15 ccm $\frac{n}{10}$ HCl;
9) mit äquivalententer Menge (also meistens 15 ccm) $\frac{n}{10}$ NaOH neutralisieren, dann wieder 2 ccm konz. $NaHCO_3$ Lösung zugeben und darauf sofort 2 bis 3 mal mit Chloroform heiß ausziehen;
10) vereinigte Chloroformmengen vorsichtig auf dem Wasserbad abdunsten bezw. abdestillieren.

Lebenslauf.

Am 25. Mai 1898 wurde ich, Hugo Banniza, als Sohn des Apothekers Hugo Banniza, und seiner Ehefrau Maria geb. Vogelsang in Hemer in Westf. geboren. Die Volksschule besuchte ich von Ostern 1903 bis 1907. Meine gymnasiale Ausbildung erhielt ich auf dem städtischen Gymnasium zu Attendorn. November 1916 trat ich in das Heer ein. Im Februar 1918 legte ich, gelegentlich eines längeren Erholungsurlaubs nach einer Verwundung, meine Kriegsreifeprüfung ab. Nach Erledigung der pharmazeutischen Praktikanten- und Assistentenzeit studierte ich vom Sommersemester 1921 bis Sommersemester 1926 an der Universität Marburg. Im April 1923 bestand ich das pharmazeutische Staatsexamen, im Dezember 1923 das chemische Verbandsexamen.

Meine Lehrer waren die Herren Professoren:

Gadamer, Claußen, Schaefer, Weigel, Nordhausen, Thiel.